

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ГОРОДСКОГО
ХОЗЯЙСТВА ИМЕНИ А. Н. БЕКЕТОВА

И. Н. Чуб, О. В. Булгакова

КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

по дисциплине

«МИКРОБИОЛОГИЯ»

(для студентов 2 и 4 курсов дневной и заочной форм обучения по направлениям подготовки 6.060103 "Гидротехника (Водные ресурсы)" и 6.060101 «Строительство» (специальность «Водоснабжение и водоотведение»))

**Харьков
ХНУГХ
2014**

ЧУБ, И.Н. Конспект лекций по дисциплине «Микробиология» (для студентов 2 и 4 курсов дневной и заочной форм обучения по направлениям подготовки 6.060103 – «Гидротехника (Водные ресурсы)»)” и 6.060101 «Строительство» (специальность «Водоснабжение и водоотведение»)) / И. Н. Чуб, О. В. Булгакова; Харьк. нац. ун-т гор. хоз-ва им. А. Н. Бекетова. - Х.: ХНУГХ, 2014. – 117 с.

Авторы: И. Н. Чуб, О. В. Булгакова

Рецензент: проф., д.т.н. С. С. Душкин

*Рекомендовано кафедрою водопостачання, водовідведення та очищення вод,
протокол засідання № 1 від 2.09.2013 р*

© И. Н. Чуб, О. В. Булгакова, ХНУГХ им. А. Н. Бекетова, 2014

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
<i>Содержательный модуль 1.1 ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ</i>	
Лекция 1. Основные понятия и определения предмета микробиологии.....	5
Лекция 2. Морфология микроорганизмов.....	8
Лекция 3. Общая характеристика основных групп микроорганизмов.....	16
Лекция 4. Строение, размножение и систематика грибов, простейших, водорослей.....	22
Лекция 5. Физиология микроорганизмов.....	35
<i>Содержательный модуль 1.2</i>	
<i>МИКРООРГАНИЗМЫ В ПРОЦЕССАХ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД</i>	
Лекция 6. Процессы самоочищения водоемов. Сапробность.....	41
Лекция 7. Биологическое окисление.....	57
Лекция 8. Биологическое окисление различных классов органических веществ в аэробных условиях.....	62
Лекция 9. Биохимическая очистка сточных вод в естественных и искусственных условиях.....	69
Лекция 10. Биологическое окисление органических веществ в анаэробных условиях.....	78
Лекция 11. Методы биотестирования с использованием беспозвоночных...	86
<i>Содержательный модуль 1.3 МИКРОФЛОРА БИОСФЕРЫ</i>	
Лекция 12. Распространение микроорганизмов в природе. Влияние факторов внешней среды.....	97
Лекция 13. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе.....	102
Лекция 14. Микрофлора биосферы.....	108
Список источников.....	115

ВВЕДЕНИЕ

Микробиология (от греч. *micros* -малый, *bios* - жизнь, *logos* - учение) - наука, изучающая строение, жизнедеятельность и экологию микроорганизмов - мельчайших форм жизни растительного или животного происхождения, невидимых невооруженным глазом. Она изучает всех представителей микромира (бактерии, грибы, простейшие, вирусы). По своей сути микробиология является фундаментальной наукой для специалистов в области очистки воды.

Настоящий конспект лекций содержит теоретические основы курса: разнообразие микроорганизмов, их место в биологической эволюции, морфология, основные физиологические и биохимические свойства. А так же рассмотрены процессы взаимодействия микроорганизмов и окружающей среды, роль микроорганизмов в процессах очистки сточных вод.

Особое внимание уделяется вопросам распространения микроорганизмов в биосфере, их роли в круговороте веществ в природе, участия в процессах самоочистки природной среды от техногенных факторов.

После каждого раздела приведены контрольные вопросы для самоконтроля, необходимые при самостоятельной работе студентов при изучении теоретического материала курса.

СОДЕРЖАТЕЛЬНЫЙ МОДУЛЬ 1.1 ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ

Лекция 1. Основные понятия и определения предмета микробиологии

Предмет и задачи микробиологии.

Этапы развития микробиологии.

Систематика и номенклатура микроорганизмов.

1. Предмет и задачи микробиологии. Микробиология - наука о живых организмах, имеющих малые размеры и не видимых невооруженным глазом. Термин происходит от греческих слов: mikros - малый и bios - жизнь. Задача микробиологии заключается в изучении строения и закономерностей развития микроорганизмов с целью выяснения их роли в процессах превращения веществ, возможности управления этими процессами. Микроорганизмы имеют исключительно важное значение в круговороте веществ в природе.

Микроорганизмы не представляют собой единой систематической группы. К ним относятся одноклеточные и многоклеточные организмы растительного и животного происхождения: бактерии, вирусы, некоторые водоросли, грибы, простейшие. Общими отличительными признаками является малый размер, определяющий у них особенности высокой интенсивности обмена веществ.

Предметом изучения микробиологии традиционно служат в основном бактерии, а также в общем плане организации рассматриваются вирусы.

Одной из наиболее существенных особенностей микроорганизмов является высокая пластичность их метаболизма, что приводит к быстрому приспособлению к меняющимся условиям окружающей среды. Указанное свойство также связано с малыми размерами клеток. Клетки микроорганизмов могут вместить в себя только несколько сотен тысяч белковых молекул. Поэтому ненужные в данных условиях существования ферменты не могут в клетках микроорганизмов содержаться про запас. Они синтезируются только тогда, когда соответствующее питательное вещество (субстрат) появляется в среде. Такие ферменты называются индуцибельными, они могут составлять до 10 % общего белка, содержащегося в клетке в данный момент времени. Таким образом, для микроорганизмов характерно большее разнообразие ферментных систем и более мобильные способы регуляции обмена веществ, чем для макроорганизмов.

Микроорганизмы можно обнаружить в арктических областях, горячих источниках, высоких слоях атмосферы, шахтах с большим содержанием сероводорода и этим они отличаются от всех растений и животных, которые часто распространены лишь на отдельных континентах или в географических зонах. Отличительным свойством микроорганизмов является также их способность к быстрому размножению. В оптимальных условиях, например, бактерии *Escherichia coli* могут делиться каждые 20 мин.

Водная микробиология изучает строение и жизнедеятельность микроорганизмов, находящихся в чистых и загрязненных водах, определяет направленность и закономерности процесса самоочищения, выясняет возможность использования микроорганизмов в качестве индикаторов степени загрязнения воды. Особое внимание уделяется изучению биохимических процессов, протекающих при очистке сточных вод, влиянию микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности на качество воды и работу очистных сооружений.

2. Этапы развития микробиологии. Морфологический этап развития микробиологии начался после изобретения микроскопа голландским ученым Антонием Левенгуком. Морфология - это наука, изучающая внешний вид, форму организма. В дальнейшем стали изучать не только строение микроорганизмов, но и их физиологические функции, т.е. процессы, происходящие в организме.

Основоположником научной микробиологии является французский ученый *Луи Пастер* (1822-1895). В своих работах он доказал, что брожение является биохимическим процессом, а его направленность определяется особенностями обмена веществ микроорганизмов. Пастер впервые установил факт развития определенных групп микроорганизмов в анаэробных условиях, т.е. в бескислородной среде. Пастером была создана вакцина против бешенства, куриной холеры, сибирской язвы.

Развитию научной микробиологии в России способствовали работы *Ильи Ильича Мечникова* (1845-1916). Разработанные им фагоцитарная теория иммунитета и учение об антагонизме микроорганизмов способствовали совершенствованию методов борьбы с инфекционными заболеваниями (Нобелевская премия 1908 г.).

Разработкой методов изучения микроорганизмов занимался немецкий микробиолог *Роберт Кох* (1843-1910). Он впервые получил чистые культуры, используя твердые питательные среды, разработал один из способов стерилизации, описал процесс спорообразования, сформулировал критерии связи инфекционного заболевания с микроорганизмом, открыл (1892 г.) возбудителя туберкулеза (палочка Коха) (Нобелевская премия 1905 г.).

В конце прошлого века (1892 г.) *Дмитрий Иосифович Ивановский* открыл проходящий через бактериальные фильтры возбудитель табачной мозаики, названный впоследствии **вирусом**. В настоящее время вирусология выделилась в самостоятельную отрасль знаний.

Важную роль в развитии микробиологии сыграли работы академика *Николая Федоровича Гамалея* (1859-1949) по открытию особой группы микроорганизмов - бактериофагов (от бактерии и греческого слова *phagos* - пожиратель), способных специфически поражать бактериальную клетку, репродуцироваться в ней и вызывать ее растворение (классический объект исследования в молекулярной генетике).

Один из основоположников советской микробиологии *Сергей Николаевич Виноградский* открыл **хемоавтотрофные микроорганизмы**, явление **хемосинтеза** (1856-1953) (процесс образования некоторыми бактериями

органических веществ из двуокиси углерода за счет энергии, полученной при окислении неорганических соединений (аммиака, водорода, соединений серы, закисного железа и др.).

В формировании **микологии** - науки о грибах большой вклад внесли работы Л. С. Ценковского (1822-1877).

В. М. Омелянский (1867-1928) первым указал на возможность применения бактерий как химических индикаторов. Он изучал жизнедеятельность микроорганизмов почвы и механизм анаэробного разложения клетчатки.

В настоящее время микробиологией как наукой занимаются многочисленные НИИ. В частности, санитарной микробиологией занимаются в Академии коммунального хозяйства им. К.Д.Памфилова, ВНИИ Водгео, санитарно-гигиеническом институте им. Эрисмана, биологических факультетах институтов и университетов.

Значительная практическая работа проводится на санитарно-эпидемиологических станциях и производственных объектах.

В последнее время получили широкое развитие микробиологические исследования, связанные с охраной окружающей среды и рациональным использованием природных ресурсов. Изучены и разработаны способы микробного разрушения сложных органических соединений, предложены методы биологического обезвреживания некоторых минеральных токсинов. В институте химии воды и коллоидной химии АН УССР им. А.В. Думанского получены активные штаммы - деструкторы поверхностно-активных веществ и разработаны конструкции для локальной очистки сточных вод с помощью этих штаммов (**штамм** - это чистая культура микроорганизмов одного вида, у которых изучены морфологические и физиологические особенности).

3. Систематика и номенклатура микроорганизмов. Согласно современной систематике, микроорганизмы относятся к трем царствам:

1. **Vira-** к ним относятся вирусы;

2. **Eucariotae-** к ним относятся простейшие и грибы;

3. **Procariotae-** к ним относятся истинные бактерии, риккетсии, хламидии, микоплазмы, спирохеты, актиномицеты.

Бактерии- это прокариотические, преимущественно одноклеточные микроорганизмы, которые могут также образовывать ассоциации (группы) сходных клеток, характеризующиеся клеточными, но не организменными сходствами. Систематика (таксономия) бактерий является одним из наиболее важных и сложных, но менее разработанных разделов микробиологии. Задачами систематики являются классификация, номенклатура и идентификация организмов.

Классификация – распределение множества организмов по группам (таксонам).

Номенклатура – присвоение названий отдельным группам и видам микроорганизмов. В систематике бактерий, так же как и в ботанике, зоологии, принята бинарная номенклатура, согласно которой бактериям присваивается название, состоящее из двух слов: первое определяет их принадлежность к конкретному роду, второе – к виду. Например, *Clostridium*

botulinum и *Clostridium tetani* – два различных вида бактерий, относящихся к одному роду. Названия бактериям присваивают в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры бактерий.

Основной таксономической категорией является вид. Виды объединяются в роды, роды – в семейства, семейства – в порядки, далее следуют классы, отделы, царства. В микробиологии существуют также более мелкие таксономические единицы, чем вид: подвид (*subspeciens*), разновидность. Подвиды могут различаться по физиологическим (*biovar*), морфологическим (*morphovar*) или по антигенным (*serovar*) свойствам. Большое значение в микробиологии имеют такие понятия, как **клон** – чистая культура, полученная из одной клетки, и **штамм** – культуры бактерий одного вида, выделенные из различных источников либо из одного источника в разное время или полученные в ходе генетических манипуляций. Разные штаммы одного и того же вида бактерий могут отличаться друг от друга по целому ряду свойств, например по чувствительности к антибиотикам, способности к синтезу токсинов, ферментов и др.

Контрольные вопросы

1. Что изучает микробиология?
2. Кто является основоположником научной микробиологии?
3. Понятия клон и штамм, определения.
4. В чем принцип современной классификации микроорганизмов?

Лекция 2. Морфология микроорганизмов

Деление микроорганизмов на прокариотов и эукариотов

Строение прокариотической клетки. Основные структуры

Деление прокариотов по строению клеточной стенки

Процессы питания у микробов

1. Деление микроорганизмов на прокариотов и эукариотов. Со времени открытия микроорганизмов А. Левенгуком и до XIX в. их рассматривали как мельчайшие существа животного происхождения. Только во второй половине XIX в. немецкий биолог Э. Геккель (1834 -1919 гг.) пришел к выводу, что микроорганизмы существенно отличаются от всех известных ранее представителей царств животных и растений, и предложил их выделить в отдельное царство *Protista* (протисты, первосущества). В настоящее время нет общепринятой теории или представления об общей системе живого мира. Согласно одной точке зрения выделяют только два царства - *Plantae* (растения) и *Animalia* (животные), микроорганизмы рассматриваются как примитивные растения или животные и соответственно входят в состав одного из этих двух царств. Согласно второй точке зрения, по Э. Геккелю, микроорганизмы выделяют в самостоятельную группу по признаку малых (видимых только с помощью соответствующих приборов) размеров и связанных с этим специфических методов изучения.

С конца XIX в. уже были данные о неоднородности микроорганизмов, в частности о различии в строении их клеток, поэтому их разделили на высшие и низшие протисты. Простейшие (одноклеточные животные), микроскопические водоросли (кроме сине-зеленых) и микроскопические грибы (плесени, дрожжи) были отнесены к высшим, а все бактерии и сине-зеленые водоросли (или цианобактерии) - к низшим протистам. Это деление было проведено в соответствии с типом клеточной организации - прокариотной или эукариотной. Низшие протисты имеют прокариотное строение клеток, а высшие - эукариотное.

Чем отличаются прокариотный и эукариотный типы клеточной организации?

Прокариоты (от греч. *karyon* - ядро) - доядерные простейшие, одноклеточные формы жизни, не имеющие ядерной мембраны и высокоорганизованных органелл. **Прокариотная клетка** имеет, как правило, цитоплазматическую мембрану, образующую одну внутреннюю полость, в которой располагается нуклеоид (ДНК), он не отделен от цитоплазмы мембраной. В цитоплазме могут быть функционально специализированные структуры, но они не отделены от нее мембранами, то есть не образуют замкнутых полостей. Рибосомы прокариотной клетки 70S-типа.

Эукариотная клетка имеет в отличие от прокариотной вторичные полости. Ядро, митохондрии, хлоропласты и другие клеточные органеллы присутствуют только в эукариотной клетке. Наружные мембраны этих органелл (ядерная, мембрана митохондрий и др.) образуют вторичные полости. Рибосомы эукариотной клетки 80S-типа.

2. Строение прокариотной клетки. Основные структуры бактериальной клетки представлены на рисунке 2.1: клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма с включениями и ядро, называемое нуклеоидом.

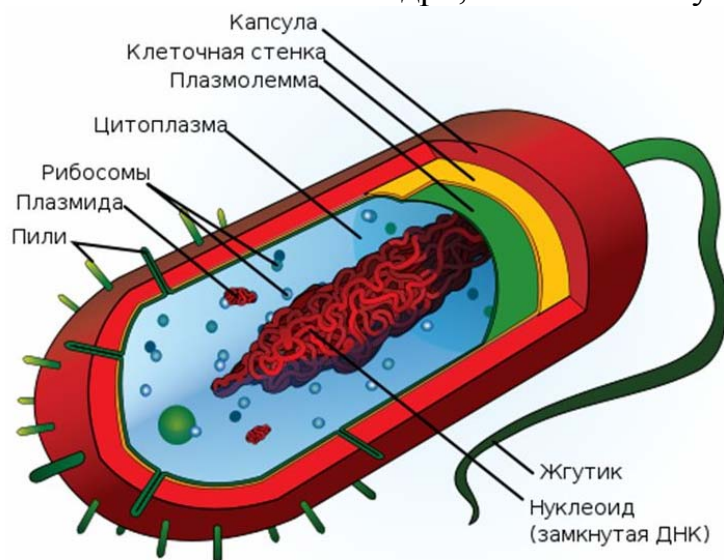


Рис. 2.1– Строение прокариотной клетки

Бактерии могут иметь и дополнительные структуры: капсулу, микрокапсулу, слизь, жгутики, фимбрии, пили; некоторые бактерии способны образовывать споры.

Цитоплазма - это сложная коллоидная система, в ней нет эндоплазматического ретикулума и других органелл, свойственных эукариотам, она неподвижна. Цитоплазма бактерий занимает основной объем клетки и состоит из растворимых белков. У некоторых видов есть микротрубочки - рапидосомы, сходные с микротрубочками простейших, и три типа органелл, окруженных белковыми мембранами: газовые пузырьки (у водных прокариот - цианобактерий); хлоробиум-везикулы (аппарат фотосинтеза у фотосинтезирующих); карбоксисомы, которые содержат фермент карбоксидисмутазу, необходимый для фиксации CO_2 в процессе фотосинтеза.

В цитоплазме располагается ядерный аппарат - генофор (нуклеоплазма), который не отделен мембраной. Кроме хромосомы имеются плазмиды, иногда целый комплекс. Хромосома и плазмиды связаны со специфическими рецепторами цитоплазматической мембраны. В ней располагаются рибосомы и все компоненты белоксинтезирующей системы.

В цитоплазме содержатся различные макромолекулы (РНК, аминокислоты, нуклеотиды и др.), могут быть мезосомы, которые участвуют в энергетическом обмене, формировании межклеточной перегородки при делении, спорообразовании и др., включения: капельки нейтральных липидов, воска, серы, полисахариды и полифосфаты (волютин). Они накапливаются при избытке питательных веществ в окружающей среде и выполняют роль запасных веществ для питания и энергетических потребностей. Зерна волютина выявляются у дифтерийной палочки в виде интенсивно окрашивающихся полюсов клетки.

Цитоплазматические элементы бактерий неизменно включают прокариотическую хромосому и рибосомы. Хромосома - обычно одна большая молекула ДНК, замкнутая в кольцо, более или менее свободно лежащая в цитоплазме. Прокариоты иногда обладают небольшими внехромосомными циклическими ДНК, названными плазмидами.

Генетический аппарат, или нуклеоид, является эквивалентом ядра у бактерий. У прокариот это более компактное образование (диаметром около 2 нм), занимающее центральную область в цитоплазме и не отделенное от нее мембраной.

ДНК прокариот имеет существенные отличия в структурной организации от эукариотной ДНК: нуклеоид бактерий не имеет ядерной оболочки, ядрышка и основных белков (гистонов).

Вся ДНК клетки (и хромосомная, и плазмидная) образует *геном* клетки. В течение роста клетки и ее деления прокариотная хромосома копируется обычным полуконсервативным способом прежде, чем произойдет ее распределение по дочерним клеткам. Однако процессы мейоза и митоза у прокариот отсутствуют. Репликация и сегрегация (разделение) прокариотной ДНК координируются мембраной, возможно мезосомами. Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома, но часто в экспоненциально

растущей культуре количество ДНК может достигать массы 3, 4, 8 и более хромосом. Нередко в клетках при действии на них определенных факторов (температуры, рН среды, ионизирующего излучения, солей тяжелых металлов, некоторых антибиотиков и др.) происходит образование множества копий хромосомы. При устранении воздействия этих факторов, а также после перехода в стационарную фазу в клетках, как правило, обнаруживается по одной копии хромосомы.

Нуклеоид выявляется в световом микроскопе после окраски специфическими для ДНК методами по Фельгену или Гимзу.

На электронных микроскопических фотографиях ультратонких срезов бактерий нуклеоид имеет вид светлых зон с фибриллярными, нитевидными структурами ДНК.

Жгутики (от англ. flagella - жгутик) бактерий представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны; длина их больше, чем длина клетки. Они определяют подвижность бактерий, позволяют им плавать в жидких средах. Толщина жгутиков 12-20 нм, длина 3 -12 мкм. Число жгутиков и их расположение у бактерий различных видов варьирует от одного полярного (монотрих) у холерного вибриона (рис. 2) до десятка и сотен жгутиков, отходящих по периметру бактерии (перитрих), у кишечной палочки, протей и др. Лофотрихи имеют пучок жгутиков на одном из концов клетки, амфитрихи - по одному жгутику или пучку жгутиков на противоположных концах клетки. Благодаря вращению жгутика происходит направленное движение бактерий.

Фимбрии или реснички (от лат. fimbria - бахрома) - нитевидные образования, более тонкие и короткие (3 - 20 нм x 0,3 - 10 мкм), чем жгутики (цв. Аклейка, рис. II). Фимбрии отходят от поверхности клетки и состоят из белка, называемого пилином. Биологическое значение фимбрий состоит в том, что с их помощью бактерии прикрепляются только к определенным поверхностям. Среди фимбрий разного типа выделяют фимбрии, ответственные за адгезию, то есть прикрепление бактерии к поражаемой клетке (например пили общего типа - common pili); фимбрии, ответственные за питание, водносолевой обмен; половые (F-пили), или конъюгационные, пили. Пили общего типа многочисленны и достигают количества нескольких сотен в одной клетке. Они являются основными факторами патогенности у болезнетворных бактерий, потому что бактерии ими прикрепляются к чувствительным клеткам и заселяют их, то есть факторами адгезии и колонизации. Кроме того, они препятствуют фагоцитозу.

Капсулы, слизистые слои и чехлы. Некоторые бактерии (пневмококки, клебсиеллы и др.) образуют *капсулу* - слизистое образование, прочно связанное с клеточной стенкой, имеющее четко очерченные внешние границы. Капсула различима в мазках-отпечатках из патологического материала, ее толщина 0,2 мкм. В чистых культурах бактерий капсула образуется реже. В ее образовании участвует цитоплазматическая мембрана. По химическому составу различают капсулы, состоящие из полисахаридов, содержащих аминокислоты, и капсулы полипептидной природы, например у сибиреязвенной бациллы.

Выявление капсул осуществляется методом негативного контрастирования. *Капсула* гидрофильна, она препятствует фагоцитозу бактерий.

Многие бактерии образуют *микрокапсулу* - слизистое образование, выявляемое при электронной микроскопии. От капсулы следует отличать *слизь* – мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких внешних границ. Бактериальные экзополисахариды участвуют в адгезии (прилипанию к субстратам), их еще называют *гликокаликсом*.

Кроме того, что бактериальные экзополисахариды синтезируются бактериями путем секреции их компонентов, существует и другой механизм их образования - при действии внеклеточных ферментов на дисахариды. В результате этого образуются декстраны и леваны.

Капсула и *слизь* предохраняют бактерии от повреждений, высыхания, так как они гидрофильны и хорошо связывают воду, препятствуют действию защитных факторов макроорганизма и бактериофагов и могут являться запасом питательных веществ.

Чехлы - это более сложные структуры. Обычно они имеют и более сложный химический состав, например, у *Sphaerotilus natans* чехол содержит: сахаров - 36, гексозамина - 11, белка - 27, липида - 5,2, фосфора - 0,5 %.

Капсулы, слизистые слои и гликокаликс, как известно, определяют специфические свойства поверхности бактериальных клеток, и некоторые компоненты этих структур являются специфическими антигенами. Капсулы также защищают бактерии от хищных простейших и от действия антибактериальных агентов животного (фагоциты, антитела) или растительного (микроцины) происхождения. Капсулы некоторых почвенных бактерий защищают их от постоянной угрозы высушивания.

Клеточная стенка. Это важный и обязательный структурный элемент большинства прокариотных клеток, который располагается под капсулой или слизистым чехлом или непосредственно контактирует с окружающей средой. На долю клеточной стенки приходится от 5 до 50 % сухого вещества клетки. Это прочная, упругая структура, служащая механическим барьером между протопластом и внешней средой, придающая клеткам определенную, присущую им форму и поддерживающая высокое осмотическое давление в клетке.

Концентрация солей в клетке, как правило, намного выше, чем в окружающей среде, и поэтому между ними существует большое различие в осмотическом давлении. Клеточная стенка механически защищает клетку от проникновения в нее избытка воды, то есть сдерживает высокое осмотическое давление в клетке. Она участвует в процессе деления клетки и транспорте метаболитов.

3. Деление прокариотов по строению клеточной стенки. Клеточная стенка прокариот резко отличается от таковой у эукариот как по строению, так и по химическому составу. Она содержит специфические полимерные комплексы, которые отсутствуют в других структурах клетки. Химический

состав и строение клеточной стенки постоянны для определенного вида и являются важным признаком при идентификации.

В зависимости от строения клеточной стенки прокариоты, относящиеся к бактериям, делятся на две большие группы. В 1884 г. датский ученый Х. Грам предложил метод окраски (впоследствии этот метод стали называть «окраска по Граму»), в результате которого бактерии делятся на **грамположительные** (сине-фиолетовый) и **грамотрицательные** (красный цвет).

Если фиксированные бактерии окрасить сначала кристаллическим фиолетовым, а затем йодом, то образуется окрашенный комплекс (генциановый фиолетовый в комплексе с йодом). В зависимости от строения клеточной стенки при последующей обработке спиртом этот комплекс либо удерживается, либо вымывается. Если бактерии остаются с сине-фиолетовой окраской, то это свидетельствует о том, что обработка окрашенного по Граму мазка бактерий спиртом вызывает сужение пор в пептидогликане и тем самым задерживает краску в клеточной стенке. То есть бактерии окрашиваются **грамположительно**.

Наоборот, **грамотрицательные** бактерии после воздействия спиртом утрачивают краситель, обесцвечиваются и при обработке фуксином окрашиваются в красный цвет вследствие меньшего содержания пептидогликана (1 - 10 % массы клеточной стенки). Клеточные стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий резко различаются по химическому составу и по ультраструктуре.

У грамположительных бактерий клеточная стенка толще (от 20 до 80 нм), чем у грамотрицательных, и пептидогликан (синонимы муреин, мукопептид) составляет основную массу ее вещества (от 40 до 90 %). Под электронным микроскопом она выглядит как гомогенный электронно плотный слой.

Функции клеточной стенки прокариот многочисленны, разнообразны и очень важны для клетки:

- механическая защита клетки от воздействия окружающей среды;
- поддержание ее внешней формы;
- обеспечение возможности существования в гипотонических растворах;
- транспорт веществ;

4. Процессы питания у микробов. Микробы не имеют специальных органов пищеварения. Все необходимые для их жизни вещества всасываются поверхностью бактериальной клетки. Продукты питания поглощаются клеткой, а отработанные вещества (продукты обмена веществ) выделяются всей поверхностью клетки наружу.

Схематически процесс питания можно представить следующим образом: бактериальная клетка в момент акта питания выпускает из себя ферменты, которые способствуют растворению питательных веществ, после чего клетка всасывает их за счет осмотического давления. Полученная пища синтезируется в виде белков, жиров и углеводов. Одна часть их идет на рост клетки, а другая расходуется в процессе дыхания. Вещества, которые полностью не используются, выделяются клеткой наружу. Выделяемые во внешнюю среду

продукты обмена веществ некоторых микробов являются для человека ядовитыми и называются токсинами.

По типу питания микробы отличаются большим разнообразием. В зависимости от рода пищи все бактерии можно разделить на три категории:

1) **Прототрофы** – использующие в пищу неорганические химические вещества (железо, водород, азот, серу).

2) **Метатрофы** – использующие в пищу органические вещества.

3) **Паратрофы** – использующие в пищу живой белок (костный мозг, желчь, слизистые оболочки глаз и половых органов). К этой группе относят все болезнетворные микробы.

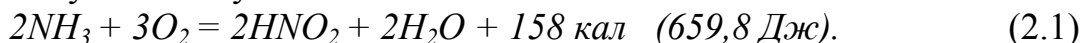
По отношению к усвоению углерода микроорганизмы подразделяются на два вида: **автотрофы** и **гетеротрофы**.

Автотрофы – ассимилируют углерод из углекислоты или ее солей с помощью фотосинтеза (поглощение световой энергии) или хемосинтеза.

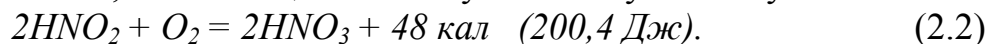
В очистных сооружениях из автотрофных организмов встречаются лишь хемосинтезирующие, т.е. бактерии, которые получают энергию, необходимую для усвоения углерода, путем окисления одного или нескольких минеральных соединений.

К автотрофам относятся:

– **Нитрифицирующие бактерии**, окисляющие азот в аммонийных соединениях в азотистые и азотнокислые соли. Процесс нитрификации идет в две фазы. Возбудители первой фазы – бактерии рода *Nitrosomonas*, окисляющие аммиак в азотистую кислоту:



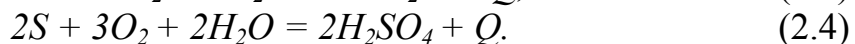
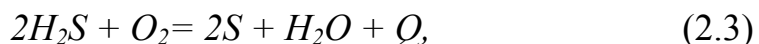
Выделяющаяся энергия расходуется на развитие нитрификаторов первой фазы и усвоение ими углерода из углекислоты. Возбудители второй фазы – бактерии рода *Nitrobacter*, окисляющие азотистую кислоту в азотную:



– **Серные бактерии**, перерабатывающие неорганические сернистые соединения (сероводород, тиосульфаты, сульфиты, серу). Серные бактерии подразделяются на три группы:

1) фотосинтезирующие серные бактерии – пурпурные и зеленые. Они содержат хлорофилл и способны проводить фотосинтез. В очистных искусственных сооружениях эта группа, как правило, не встречается;

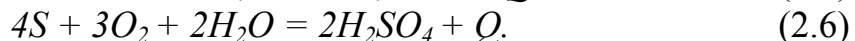
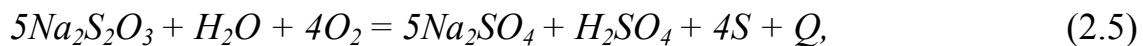
2) бесцветные нитчатые серные бактерии – эта группа окисляет сульфиды до сульфатов:



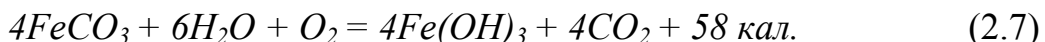
Часть выделяемой при этом энергии используется бактериями в процессе ассимиляции углекислоты. В очистных сооружениях для очистки бытовых сточных вод встречаются бактерии этой группы *Beggiatoa* и *Thiothrix*;

3) тионовые бактерии, окисляющие сероводород, серу, тио- и тетрасоединения серы. К этой группе относят палочковидные формы, не образующие спор, рода *Thiobacillus*. Энергия, выделяющаяся в процессе

окисления соединений серы, используется ими для усвоения углерода из углекислоты:



К автотрофам относятся также **железобактерии**. Они поглощают из окружающей среды растворенные в воде закисные соли железа и превращают их в гидрат окиси железа:



Выделившаяся при этом энергия используется бактериями для ассимиляции углерода. Железобактерии в очистных сооружениях встречаются в исключительных случаях.

Гетеротрофы. Большинству бактерий свойственен гетеротрофный тип питания. Эти организмы нуждаются в готовых органических соединениях. Так, в качестве источника углерода многие микробы используют различные углеводороды, органические кислоты, спирты, углеводы, белки и др. соединения. Готовые органические соединения необходимы гетеротрофам для покрытия энергетических нужд и синтеза новых углеродосодержащих соединений, составляющих тело растущего организма. Некоторые организмы способны развиваться только за счет специфического органического вещества, например, целлюлозы. Для них клетчатка является единственным источником углерода. Такие организмы называются “субстрат-специфичными” бактериями.

При очистке сточных вод гетеротрофным бактериям принадлежит основная роль в разрушении органических веществ, содержащихся в воде.

Группу гетеротрофных патогенных микробов называют **сапрофитами** (от греч. *Sapros* – гнилой и *phytos* – растение).

Контрольные вопросы

1. Питание микробов.
2. В чем сходство и отличие прокариотов и эукариотов?
3. Охарактеризуйте основные структуры бактериальной клетки.
4. Классификация микробов по типу питания.
5. По какому признаку происходит деление бактерий на грамположительные и грамотрицательные?
6. Автотрофы (нитрифицирующие, серные, железобактерии).
7. В чем сущность гетеротрофного типа питания микроорганизмов?

Лекция 3. Общая характеристика основных групп микроорганизмов

Классификация микроорганизмов

Вирусы, их строение и химический состав

Строение бактерий и риккетсий

Размножение бактерий

1. Классификация микроорганизмов. Микробы подразделяются на две большие группы. К первой относятся те, которые питаются различными органическими и неорганическими веществами. Микробы этой группы называются **апатогенными**. С их помощью осуществляются все процессы очистки воды на очистных сооружениях, а также происходит минерализация органических веществ в водоемах.

Поэтому знание условий жизнедеятельности микробов этой группы необходимо для того, чтобы разобраться в технологии биологической очистки воды и управлять работой очистных сооружений.

Во вторую группу входят микробы, находящиеся в организмах животных и растений, т.е. использующие в пищу живую природу. Микробы этой группы называются **патогенными**. Изучение условий их существования способствует предупреждению возникновения эпидемий, так как многие заболевания могут передаваться через воду.

В очистных сооружениях и бытовых сточных водах встречается бесчисленное множество живых существ. Микромир активного ила, биопленки сточных вод нельзя рассматривать исключительно как мир микроорганизмов.

К микроорганизмам относятся низкоорганизованные одно- или многоклеточные представители растительного (**микрофлора**) и животного мира (**микрофауна**). Особую группу микроорганизмов составляют **ультрамикробы** (вирусы и фаги), являющиеся неклеточными формами живых организмов. Наиболее часто в природных и сточных водах встречаются следующие группы микроорганизмов:

- 1) ультрамикробы (вирусы и фаги);
- 2) бактерии;
- 3) актиномицеты;
- 4) грибы;
- 5) водоросли;
- 6) простейшие;
- 7) коловратки.

Рассмотрим отличительные признаки основных групп микроорганизмов.

2. Вирусы, их строение и химический состав. Вирусы- это микроорганизмы, не имеющие клеточного строения. Размеры структурных единиц вирусов (вирионов) колеблются от 10 до 300 нм. В состав вирионов входят молекулы рибонуклеиновой (РНК) или дезоксирибонуклеиновой (ДНК) кислот, окруженные белковой оболочкой. Вирусы имеют разнообразную форму: кубическую, сферическую, палочковидную и др. Размножение вирусов осуществляется простым делением или более сложным путем, но только внутри

клеток живого организма. Для их репродукции необходима нуклеиновая кислота.

Таким образом, вирусы не являются самостоятельными организмами, для их репродукции нужны живые клетки. Вирусы обладают специфичностью действия, т.е. отдельные группы вирусов поражают определенные живые организмы.

Вирусы размножаются в клетке хозяина, вызывают ее гибель, затем поражают соседние здоровые клетки, таким образом разрушая целые комплексы клеток. Именно по таким очагам поражений в тканях (некрозы) распознают присутствие вирусов.

В воде наиболее часто встречаются **энтеровирусы**, развивающиеся в пищеварительном тракте человека и животных. Вирионы энтеровирусов имеют малые размеры (17 - 32 нм). Они состоят из молекулы РНК (20 - 30%) и белковой оболочки. Энтеровирусы устойчивы к высушиванию, могут образовывать кристаллы кубического типа симметрии.

Особую группу вирусов представляют паразитические формы микроорганизмов - **фаги**. Фаги, поражающие бактерии называются бактериофагами, актиномицетов - актинофаги, грибов - микофаги, водорослей - альгофаги. Фаги имеют булавовидную форму. У них утолщенная часть над головкой, а суженная - в хвостовой. Размеры бактериофагов варьируют в пределах от 50 до 100 нм.

Адсорбируясь на поверхности клетки бактерии, фаги выделяют фермент, способствующий растворению оболочки, после чего молекулы РНК и ДНК фагов поступают в клетку. При этом происходит изменение обмена веществ, заключающееся в том, что вместо вещества клетки идет образование вещества фага. Через несколько часов оболочка клетки разрывается и во внешнюю среду поступает большое количество новых фагов (сотни и даже тысячи).

Вряд ли существуют бактерии, для которых при достаточно тщательных поисках нельзя было бы найти соответствующих бактериофагов. Фаги поражают только определенный вид или близкие к нему микроорганизмы, т.е. обладают избирательностью действия. Различают фаги *E. coli*, *Salmonella* и т.д. Это свойство бактериофагов позволяет использовать их в качестве санитарно-показательных микроорганизмов.

Для индикации определенного вида бактерий в исследуемую воду помещают небольшое количество определенного вида бактериофага и через некоторое время определяют изменение числа бактериофагов в определенном объеме жидкости - **титр фага**. Возрастание этого показателя указывает на присутствие в воде определенного вида бактерий.

Бактериофаги встречаются в воде водоемов, сточных водах, почве, т.е. там, где живут сопутствующие им виды микроорганизмов. Бактериофаг находящийся в водоемах является одним из мощных факторов его самоочищения.

При отсутствии необходимых для питания бактериофага микробов он постепенно погибает. По отношению к высоким температурам бактериофаг неустойчив, низкие температуры он выдерживает. К различным

дезинфицирующим химическим веществам бактериофаг более устойчив, чем микробы, которыми он питается.

3. Строение бактерий и риккетсий Промежуточное положение между вирусами и бактериями занимают **риккетсии**, названные в честь *Риккетса*, впервые описавшего возбудителя болезни пятнистая лихорадка.

Бактерии шаровидной или эллипсоидальной формы называются **кокки**. Среди них имеется шесть разновидностей, отличающихся порядком расположения клеток, (рис. 3.1). Если после деления клетки отходят друг от друга, то образуются одиночные кокки (**микрококки**).

При делении, происходящем в одном направлении, кокки могут оставаться соединенными попарно, образуя **диплококки**, или цепочки клеток - **стрептококки**.

При делении клеток в двух взаимно перпендикулярных направлениях происходит образование групп клеток, отличающихся плотной упаковкой - **сарцин**.

Если же деление клеток идет беспорядочно, то образуются группы бактерий, напоминающие по внешнему виду виноградную гроздь, - **стафилококки**.



Рис. 3.1 - Морфологические типы бактерий

1 – микрококки; 2 – диплококки; 3 – стрептококки; 4 – тетракокки; 5 – сарцины; 6 – стафилококки; 7 – палочки; 8 – вибрионы; 9 – спириллы; 10 – спирохеты.

Извитые бактерии отличаются количеством витков. Бактерии в виде слегка изогнутых палочек (вид запятой) (до 1/4 витка) называются **вибрионами**. С одним или несколькими (4 - 6) витками - это **спириллы**; длинные тонкие нити с большим количеством мелких завитков - **спирохеты**.

Наряду с типичными формами бактерий существуют микроорганизмы, отличающиеся от них некоторыми признаками.

Среди бактерий много подвижных форм. Передвижение бактерий осуществляется либо в форме ползущих движений, либо путем различных колебаний всего тела, или с помощью нитевидных органов - **жгутиков**. Жгутиками обладают большинство спирилл, спирохет, вибрионов, (рис 3.2). В зависимости от расположения жгутиков микроорганизмы делятся на три группы: монотрихи (один жгутик), лофотрихи (пучок жгутиков на одном конце клетки) и перетрихи (жгутики расположены по всей поверхности тела клетки).

Размер и вес бактериальных клеток ничтожно малы. Бактерия среднего размера весит всего $4 \cdot 10^{-12}$ г. Длина большинства бактерий не превышает 1-5 микрон, а ширина составляет 0,5-1 микрон (1 микрон= 10^{-6} м).

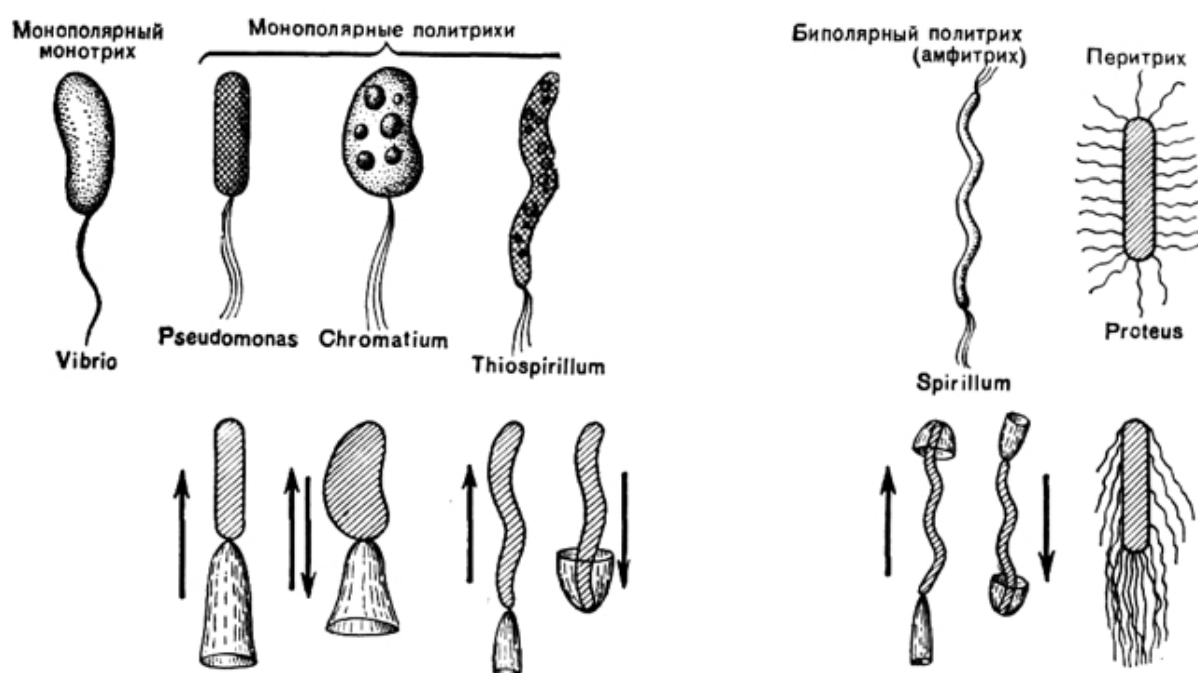


Рис. 3.2 - Основные типы расположения жгутиков и типы движения бактерий

Бактерии проявляют свойство **полиморфизма**, т.е. многообразие формы и размеров для одного и того же вида. Форма бактериальных клеток может изменяться под влиянием изменения условий окружающей среды (температура, pH, режим питания и др.).

Бактериальная клетка имеет сложное строение: она состоит из протоплазмы, ядерного вещества, различных по химическому составу включений и оболочки. Наружный слой содержимого клетки - цитоплазмы уплотнен и образует трехслойную цитоплазматическую мембрану, состоящую из внутреннего липидного слоя (жирового) и внешних слоев - белковых. Цитоплазматическая мембрана примыкает к оболочке клетки. Она обладает избирательной проницаемостью по отношению к различным соединениям и регулирует осмотический перенос веществ в клетку и из нее. В цитоплазматической мембране сосредоточены системы, катализирующие энергетические процессы. Внешняя оболочка клетки плотная, но эластичная, что способствует сохранению определенной формы бактерий.

Большинство видов бактерий не имеет обособленного ядра. Ядерное вещество, представленное ДНК, у них не отделено от цитоплазмы и образует **нуклеотид** (блоки, из которых синтезируются нуклеиновые кислоты). Транспортировка веществ, необходимых для жизнедеятельности клетки, и отвод продуктов обмена осуществляются по особым каналам и полостям, отделенным от цитоплазмы мембраной, имеющей такое же строение, как и цитоплазматическая. Это структурное образование называется **эндоплазматической сетью** (ретикулум).

Таким образом, в состав бактериальной клетки входит 75-85% воды и 25-15% сухого вещества. Основная масса воды находится в связанном состоянии. Сухое вещество бактериальной клетки состоит из органических веществ (90%), 10% приходится на долю неорганических веществ (зольные элементы).

Органическая фракция по отношению к сухому веществу клетки содержит 45-55% углерода, 7-15% азота, 29-30% кислорода и 6-8% водорода. Это - белки, жиры и углеводы.

Неорганическая фракция включает фосфор, калий, натрий, магний, серу, кальций, железо. Остальные элементы находятся в очень малых концентрациях. Это так называемые микроэлементы, к ним относятся хлор, марганец, цинк, молибден, бром, хром, кобальт и др. Содержание минеральных веществ в клетке бактерии зависит от ее возраста, вида организма и условий его существования.

Все основные соединения, входящие в состав тела бактерии, должны быть и в составе питательной среды. Без наличия хотя бы одного из них или совсем не будет роста бактерий, или он будет очень малым. Биохимические процессы, протекающие в организме бактерий, совершаются при участии ферментов - энзим. Ферменты синтезируются живыми клетками организмов и обладают высокой активностью. Вместе с тем ферменты неустойчивы: при неблагоприятных условиях среды они теряют активность и разрушаются.

4. Размножение бактерий. У бактерий нет пола. Это существа однополые и размножаются простым делением клетки. Скорость размножения зависит от ряда условий и может быть различной. При непрерывном притоке питательных веществ и удалении продуктов обмена клетка делится каждые 20-30 минут. Время, необходимое для завершения деления клетки, называется **временем генерации**. Через 24 часа количество бактерий должно достичь астрономических цифр. Но в природных условиях бактерии редко могут размножаться беспрепятственно. Недостаток пищи, влаги, света, тепла и борьба между различными бактериальными видами приводят к тому, что одновременно с колоссальным размножением происходит не менее колоссальное отмирание бактериальных клеток.

Некоторые бактерии обладают способностью к спорообразованию. **Спорообразование** - способ сохранения вида, попавшего в неблагоприятные для него условия. Внутри клетки образуется особое тельце округлой или эллипсоидальной формы, одетое плотной оболочкой, - **спора**, которая предохраняет ее от воздействия внешней среды. Со временем в иных условиях

из шарика-споры «вылупится» бактерия, которая через 40-60 минут переходит к нормальному обмену веществ.

Споры - самые устойчивые существа на земле. Кипячение, морозы, высушивание, солнечные лучи, даже химические яды почти не действуют на них. Одним из эффективных методов влияния на споры является **стерилизация** - термическая обработка в автоклаве при температуре 120°C, удвоенном давлении в течение 20-30 минут (393°K, 202650 Па).

Систематика бактерий проводится на основании определенных признаков у группы микроорганизмов. Для выделения бактерий в определенную систематическую группу необходимо тщательное изучение морфологии, способности к перемещению, спорообразованию. Отличительными признаками служат отношение клеток к **окрашиванию по Граму**. Сущность этого метода заключается в выяснении возможности удерживания клеткой красителя (кристаллический фиолетовый - йод) при последующей обработке препарата спиртом. Использование этого индикаторного метода позволяет выделить две группы микроорганизмов: **грамположительные**, сохраняющие окраску, и **грамотрицательные**, обесцвечивающиеся при обработке препарата спиртом.

Для отнесения микроорганизмов к определенной систематической группе необходимо знать также особенности обмена веществ, выяснить характерные признаки изменения внешней среды под влиянием жизнедеятельности микроорганизма, например, образование газов; определить способ получения энергии, отношение микроорганизмов к воздействию факторов внешней среды.

Для бактерий, как для животных и растений, принята **бинарная номенклатура**: каждой бактерии присваивают родовое и видовое название.

В бактериологии наряду с понятием «вид» широко распространено понятие «штамм». **Штаммом** называют чистую культуру данного вида микроорганизмов, объединенную общностью происхождения (например, штамм такого-то больного).

Для бактерий только морфологической характеристики недостаточно из-за простоты их строения, поэтому классификация их базируется и на функциональных признаках.

Для облегчения работы с бактериями существует понятие «**типовой вид**». Каждый такой хорошо известный, тщательно изученный, легко определяемый вид является типичным представителем рода или группы видов.

Как правило, культуры типовых видов поддерживаются в музеях культур различных исследовательских учреждений.

Особое положение в систематике вообще, а в систематике бактерий, в особенности, занимает категория **рода**. Вид не может получить название, если он не отнесен к определенному роду (по старому правилу родовое название - морфологические признаки, видовое - физиологические).

Идентификация до рода требует большого количества физиологических и биохимических экспериментов, в том числе тесты на различные ферменты, восстановление нитратов, образование сероводорода, кислот, газов и др. признаки.

В последнее время приобретает значимость анализ нуклеотидного состава бактерий.

Нитчатые формы микроорганизмов. Нитчатые бактерии по размерам и строению существенно отличаются от основного типа одноклеточных микробов. Они являются организмами многоклеточными, но в остальном, кроме размеров, обладают свойствами микробов. Нитчатые бактерии представляют собой тонкие длинные нити с поперечным диаметром 1-25 мкм, состоящие из сцепленных коротких клеток. Длина нитчатых бактерий иногда превышает 100 мкм. Нитчатые формы встречаются в группах серо-, железо-, мanganобактерий. Они могут быть свободноплавающими либо прикрепленными к какому-нибудь твердому телу.

Серобактерии заселяют загрязненные водоемы, вырастают густыми дерновинками на поверхности ила и поселяются на бетонных стенках сооружений. Серобактерии *Beggiatoa*, попадая в трубы, почти полностью их забивают. Выделяемая в процессе жизнедеятельности серобактерий серная кислота разрушает бетон и металлические конструкции. При действии на бетон или железобетон серной кислоты, образованной серобактериями, выделяется гипс.

Нитчатые метано- и железобактерии, разрастаясь в водопроводных трубах, закупоривают их отложениями гидроокисей железа и марганца.

Массовое развитие одного из видов бактерий в активном иле вызывает резкое расстройство в работе биологических сооружений: активный ил вспучивается и плохо оседает при отстаивании.

Контрольные вопросы

1. Патогенные и апатогенные микроорганизмы.
2. Микроорганизмы воды.
3. Вирусы, их строение и размножение.
4. Роль фагов в процессе самоочищения водоемов.
5. Классификация бактерий по морфологическим признакам.
6. Состав и строение бактериальной клетки.
7. Размножение бактерий, спорообразование.
8. Систематика бактерий.
9. Нитчатые формы микроорганизмов.

Лекция 4. Строение, размножение и систематика грибов, простейших, водорослей

Грибы – строение, систематика

Водоросли – строение, их виды

Простейшие (Protozoa) - видовое разнообразие, их строение, классификация

В процессах очистки воды от загрязнений наряду с бактериями (прокариоты) принимают участие эукариотные (имеющие ядро) организмы – грибы, (рис.4.1), водоросли и простейшие. Обычно это участие не прямое и

выражается в потреблении продуктов жизнедеятельности бактерий или в поедании самих бактериальных клеток. Тем не менее, грибы и водоросли в изобилии развиваются в биофильтрах, водоросли – в окислительных прудах, а простейшие – во всех типах очистных сооружений.

1. Грибы – строение, систематика. Грибы (*mycota*). По строению и биологии размножения грибы разделяются на слизистые грибы – миксомицеты и настоящие грибы (*Eumycota*). Миксомицеты обычно на очистных сооружениях не встречаются и отсутствуют данные о разрушении ими органических соединений.

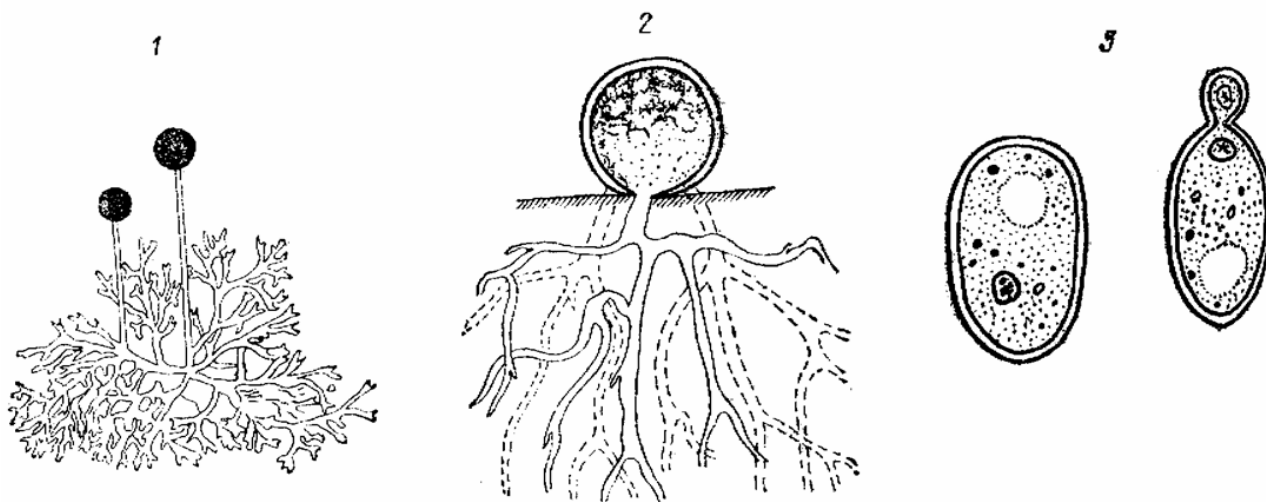


Рис. 4.1 – Грибы

1 – *Mucor mucedo*; 2 – водный фикомицет; 3 – дрожжи

У истинных грибов вегетативное тело представляет собой скопление множества нитей, часто сильно разветвленных и переплетенных, называемых **мицелием**.

Мицелий бывает бесцветным или пигментированным в различные цвета, чаще зеленоватых или сине-зеленых тонов, что хорошо видно при росте грибов на поверхности плотных питательных сред, где они образуют колонии.

У грибов нет фотосинтетических пигментов. По типу питания они **гетеротрофы** (источником углерода служат органические соединения). Поглощение питательных веществ возможно лишь из растворов (осмотротрофия).

Мицелиальные грибы для роста и развития требуют аэробных условий; энергию они добывают в окислительных реакциях, используя для этого органические соединения. Все без исключения грибы, принадлежат к растительному миру. Наука о грибах – **микология** – представляет собой часть ботаники.

Число известных грибов очень велико. В 25-томном труде *Соккардо*, изданном в 1882-1928 гг. собрано описание 74323 их видов.

Некоторые из **сапрофитных** грибов (микромиксыцеты), культивируемые с применением микробиологических методов, выделяются из очистных сооружений, особенно из биофильтров. Нередко эти грибы известны как

плесневые грибы, портящие продукты и некоторые промышленные товары (ткани, кожу), или как продуценты органических кислот. Все они способны потреблять соединения растительного и животного происхождения.

Строение мицелия. Гифы грибов могут быть одно- (большинство низших грибов) или многоклеточными, разделенными на клетки поперечными перегородками, имеющими в центре пору, через которую сообщается цитоплазма соседних клеток. Многоклеточный мицелий имеют все высшие грибы. **Гифа** представляет собой трубчатую нить, диаметр которой зависит от вида гриба и условий культивирования и колеблется от 3 до 10-12 мкм.

Клетки грибов (гифы) покрыты **оболочкой**, по составу отличающейся от бактериальных и растительных оболочек, которая состоит из полисахаридов и хитина.

Принадлежность к определенному классу предопределяет химический состав клеточных оболочек.

Хитин - вещество, свойственное животному миру. Хитин - целлюлоза, в молекуле которой гидроксильные группы при 2-м углеродном атоме остатков глюкозы замещены ацетилированными аминогруппами. Из хитина состоят жесткие покровы насекомых. Однако в оболочках некоторых грибов содержание хитина достигает 60%.

Молодые оболочки гиф бесцветны, с возрастом у некоторых видов пигментируются в различные цвета: зеленый, синий, желтый, оранжевый, красный, коричневый.

Оболочки бывают двух- и многослойные. Под оболочками расположены **цитоплазматические мембраны**. Мембрана состоит из белков (около 38%) и липидов (около 40%). Это обеспечивает ее проницаемость для водо- и жирорастворимых веществ.

Содержимое клетки представлено цитоплазмой, имеющей одно или несколько ядер, вакуоли, митохондрии, рибосомы и включения, состоящие из запасных питательных веществ.

Состояние **ядра** у грибов типичное для эукариотов растительных организмов. Размеры ядра 2-3 мкм, форма округлая. Наличие ядерной оболочки у ядер грибов и водорослей - отличительный признак структуры их клеток. Нуклеотиды безъядерных микроорганизмов лишены оболочек.

Ядра размножаются или прямым делением - амитозом, или косвенным - митозом. Хромосомы грибов состоят из цепочек ДНК и РНК.

Грибы размножаются вегетативным, т.е. бесполом путем, но у них есть и половое размножение. Бесполое размножение возможно: спорами, почкованием клеток, фрагментацией гиф с образованием ондий или артроспор, а также в результате механического разрыва мицелия. Грибам свойственна **высокая регенеративная способность**: любой обрывок мицелия в благоприятных условиях дает рост, превращаясь в организм следующего поколения.

Половое размножение грибов происходит в результате слияния двух клеток - гамет, сопровождаемое слиянием ядер.

Систематика грибов. В микологии все грибы разделяют по ряду морфолого-биологических признаков на низшие и высшие.

К **низшим** грибам принадлежат два класса:

- а) архимицеты, не имеющие мицелия и живущие в водной среде;
- б) фикомицеты, часть из которых еще ведет водный образ жизни, а другая часть в процессе филогенеза уже перешла к сухопутному существованию.

К **высшим** грибам относятся классы сумчатых грибов и базидиальных. Их вегетативное тело представляет собой хорошо развитый нитчатый многоклеточный мицелий, они обладают морфологически четко дифференцированными органами размножения.

В очистных сооружениях, особенно на биофильтрах, встречаются представители классов *Phycomycetes* (грибы - водоросли), аскомицеты (*Ascomycetes*) (сумчатые) и несовершенные грибы.

Фикомицеты были выделены из проб биопленки биологических фильтров, проб отстойников и у выхода воды из Безлюдовских очистных сооружений г. Харькова.

К отдельной группе грибов - **микромикетов**, встречающихся в биопленках очистных сооружений, относятся роды *Aspergillus* и *Penicillius* семейства аспергиллиевых. Эти роды широко распространены в природе, особенно в почвах, они известны как плесени, повреждающие пищевые продукты.

Грибы при росте на поверхности плотных питательных сред образуют колонии, легко сливающиеся между собой в так называемые дерновинки, покрывающие субстрат сплошной, чаще зеленовато-голубоватой, серой или белой бархатистой пленкой. Цвет колоний или дерновинок является постоянным для каждого вида и служит диагностическим признаком при определении вида.

К **аскомицетам** относятся также дрожжи, или дрожжевые грибы. Это одноклеточные организмы. При выращивании в жидкой среде дрожжи могут образовывать пленку на поверхности или расти в глубине среды, вызывая брожение углеводов. Дрожжи и дрожжеподобные грибы широко распространены в природе и встречаются в почве, на поверхности растений и насекомых.

2. Водоросли – строение, их виды. В очистных сооружениях типа биофильтров и в прудах могут в большом количестве развиваться **водоросли**, (рис. 4.2).

Наиболее распространены **зеленые водоросли** подкласса *Protococcine*. Наличие хлорофилла в клетках водорослей обуславливает их способность к фотосинтезу. Различная окраска объясняется тем, что кроме хлорофилла в клетках могут находиться и другие пигменты.

По химическому составу зеленые водоросли близки к высшим растениям. Среднее содержание углеводов 30-35%, азотсодержащих - 4-45%, липидов - 10%, золы и других веществ - 10-20%. Содержание различных веществ колеблется в зависимости от вида водорослей, условий произрастания и других факторов. Некоторые группы могут использовать в качестве источника питания органические вещества (миксотрофные водоросли).

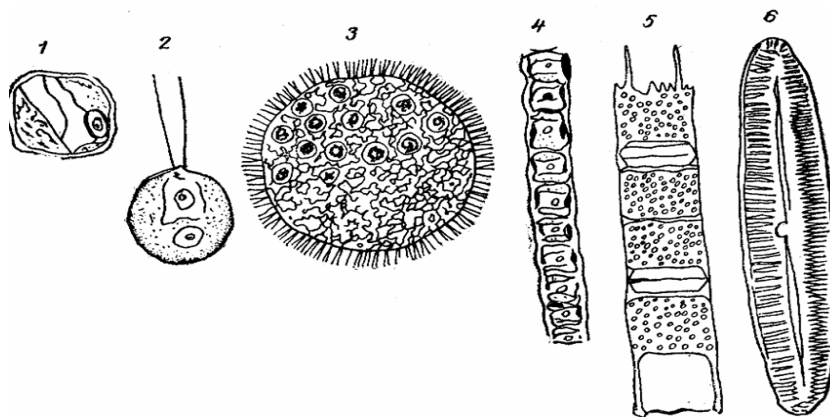


Рис. 4.2 – Водоросли

Зеленые водоросли: 1 – *Chlorella vulgaris*; 2 – *Chlamidomonas simplex*; 3 – *Volvox aureus*; 4 – *Ulothrix zonata*.

Диатомовые водоросли: 5 – *Melosira granulata*; 6 – *Pinnularia viridius*.

Зеленые водоросли (рис. 4.3) широко распространены в поверхностных водоемах. Среди них встречаются одно-, многоклеточные и колониальные формы. Размножаются они делением цитоплазмы с образованием дочерних клеток или половым путем. Некоторые виды размножаются путем образования подвижных спор. Колонии образуются в результате бесполого деления, при котором дочерние клетки остаются связанными друг с другом. Ядро клетки зеленых водорослей дифференцировано и отделено от цитоплазмы мембраной. Оболочка клеток состоит из целлюлозы. В цитоплазме могут содержаться зерна крахмала, которые являются продуктом фотосинтеза. Роль зеленых водорослей в очистке воды состоит в фотосинтетической аэрации окислительных прудов.

В пресных водоемах наиболее часто встречаются из одноклеточных форм хлорелла (*Chlorella vulgaris*), хламидомонады (*Chlamidomonas*), из колониальных вольвокс (*Volvox aureus*), гониум (*Gonium pectorale*), из многоклеточных - улотриксые.

Синезеленые водоросли (рис. 4.4) относятся к самым низкоорганизованным формам. Они наиболее приспособлены к жизни в водоемах, загрязненных органическими веществами. Многие из них могут фиксировать молекулярный азот для биосинтеза белка. Среди синезеленых водорослей встречаются одноклеточные (*Aphanizomenon flos aqua*) и (*Anabaena*) (рис. 4.5). В их клетках в отличие от других типов водорослей нет вакуолей с клеточным соком и обособленных ядер. Хлорофилл и другие пигменты (синий - фикоциан, красный - фикоэритрин, оранжевый - каротин) распределены в виде зерен в наружном слое цитоплазмы.

Синезеленые водоросли находятся во взвешенном состоянии благодаря наличию газовых пузырьков внутри клетки. Для многих видов синезеленых водорослей характерно образование слизистых оболочек, способствующих формированию колоний.



Рис. 4.3 – Зеленые водоросли

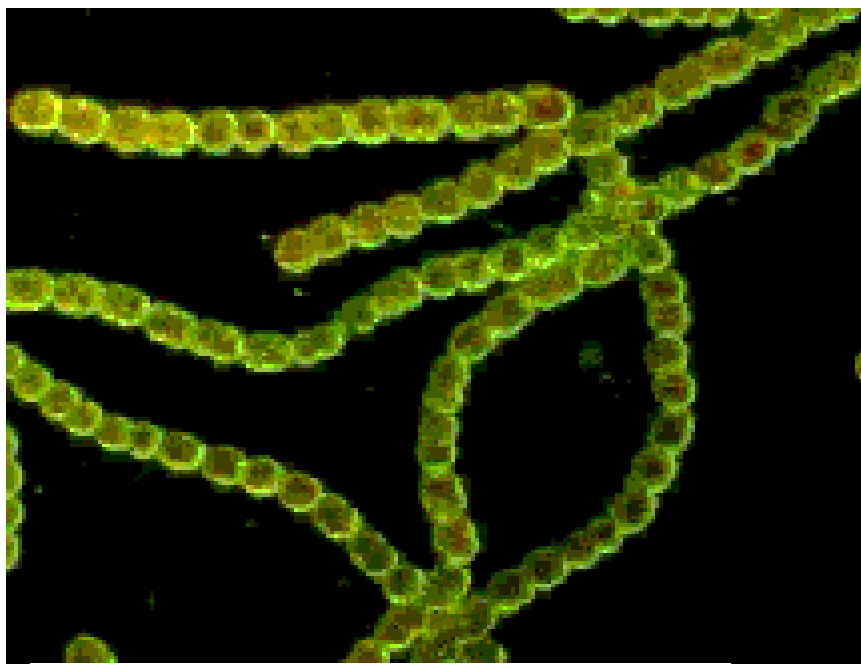


Рис. 4.4 – Синезеленые водоросли

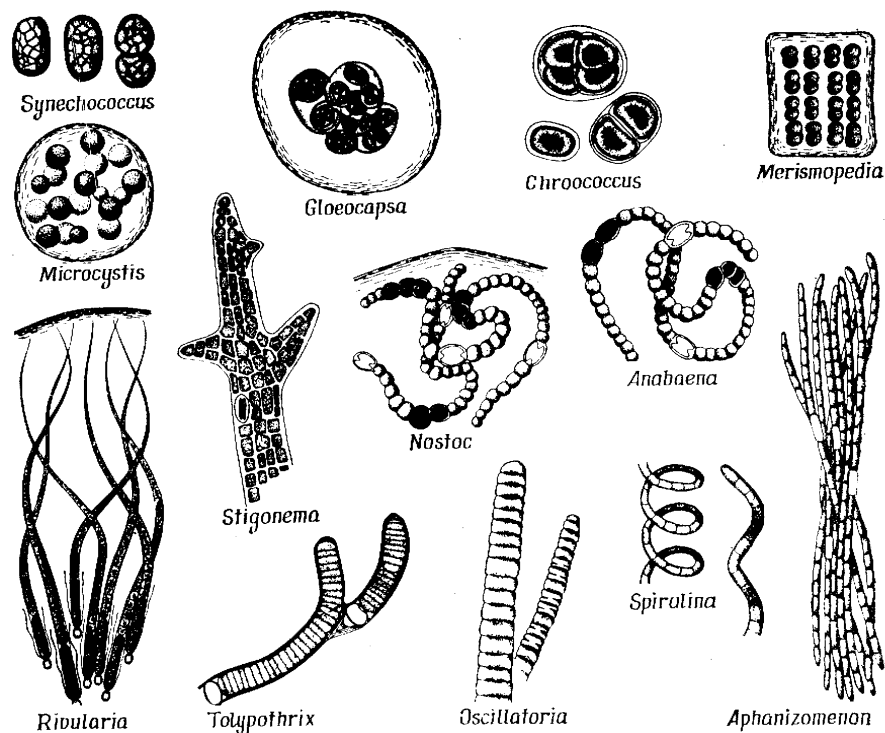


Рис. 4.5 – Некоторые виды синезеленых водорослей

Диатомовые водоросли - одноклеточные микроорганизмы, имеющие твердые силикатные панцири, (рис. 4.6).

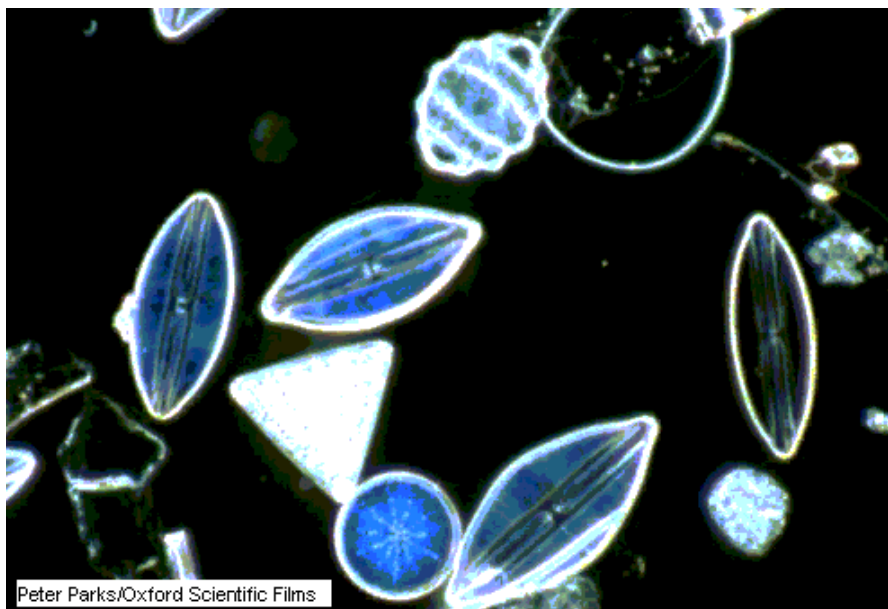


Рис. 4.6 – Диатомовые водоросли

Пигменты, входящие в состав их клеток, имеют бурую или желтую окраску. Размножаются они простым делением или с помощью спор. Строение кремниевого панциря, состоящего из двух створок, является отличительным признаком вида.

Из диатомовых водорослей в пресных водоемах наиболее часто встречаются астерионелла (*Asterionella*) , синедра (*Sinedra*), мелозира (*Melosira*).

Красные Coralline водоросли принадлежат к типу Rhodophyta. Красные водоросли (рис. 4.7) могут включать углекислый кальций в стенках их ячеек, придавая их телу жесткость. Большинство красных водорослей имеют способность к фотосинтезу, встречаются на значительно больших глубинах, чем другие типы водорослей. Некоторые виды красных водорослей с Багамских островов растут на глубинах почти 880 футов (~260 м).

Из красных водорослей выделяют вещество - агар, который используется в биохимической промышленности.



Рис. 4.7 – Красные водоросли

3. Простейшие (Protozoa) - видовое разнообразие, их строение, классификация. К этому типу относятся одноклеточные животные организмы. Большинство из них имеют относительно постоянную форму клетки благодаря наличию плотной, эластичной оболочки - пелликулы. Многие простейшие способны передвигаться.

Деление типа на классы основано на особенностях строения органоидов движения. Размножение простейших происходит в результате простого или множественного деления, а также половым путем.

Постоянными обитателями водоемов являются следующие **классы** простейших:

- 1) саркодовые (*Sarcodina*);
- 2) жгутиковые (*Mastigophora* или *Flagellata*);
- 3) инфузории (*Infusoria* или *Ciliata*).

Класс **саркодовых** включает в себя простейших, образующих выросты для передвижения и захвата пищи. Сюда относятся амёбы (голые и раковинные), солнечники, фораминиферы и радиолярии (рис. 4.8, 4.9).

Цитоплазма у них образует два слоя: внешний (экзоплазма) и внутренний, более темный (эндоплазма).

Амёбы имеют обособленное ядро. У некоторых видов солнечников имеется большое количество ядер (до 200). Захваченная псевдоподиями пища с небольшим количеством воды образует в клетке пищеварительные вакуоли, где и происходит ее переваривание. Остатки пищи выводятся из клетки.

Амёбы питаются бактериями, солнечники - другими простейшими (жгутиковыми, инфузориями), т.е. являются хищниками.

В клетках простейших имеются сократительные вакуоли, которые служат для осморегуляции и выведения некоторых растворимых в воде продуктов обмена веществ.

У раковинных амёб для защиты от неблагоприятного внешнего воздействия имеются раковины, состоящие из органических веществ и кремнезема.



Рис. 4.8 – Простейшие

1 – *Opercularia coarctata*; 2 – *Vorticella convallaria*; 3 – *Flagellata*; 4 – *Vorticella microstoma*

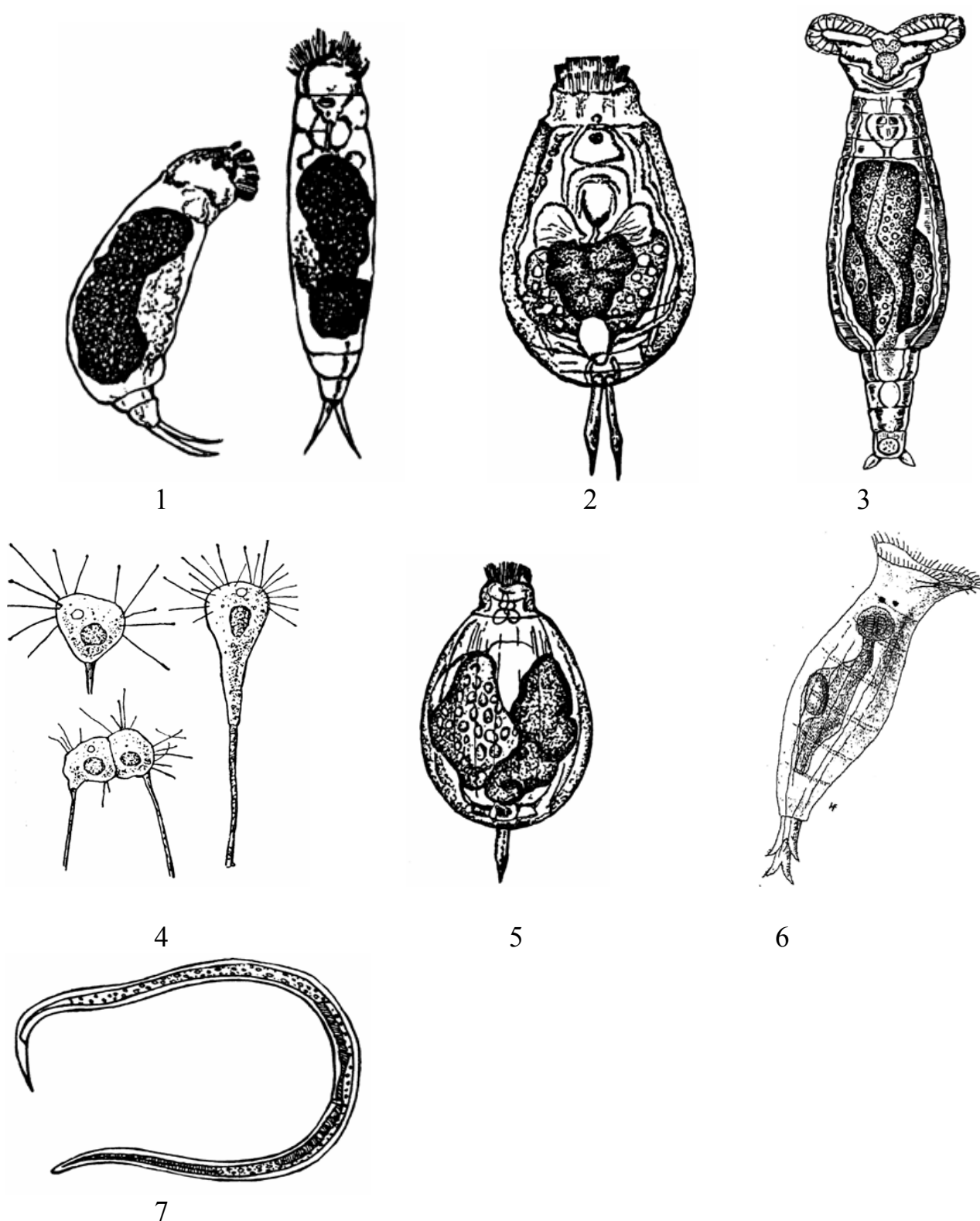


Рис. 4.9 – Простейшие

1 – *Notommata ansata* (вид со спины и вид сбоку); 2 – *Cathypha luna*; 3 – *Callidina vorax*; 4 – *Tokophria lemnae*; 5 – *Monostyla cornuta*; 6 – *Philodina roscola*; 7 – Круглый червь *Nematoda*

Солнечники являются постоянными обитателями пресных и морских вод. Большинство из них свободноплавающие, но некоторые прикрепляются к субстрату. Они имеют сферическую форму и радиально расположенные

псевдоподии с прочной осевой нитью внутри. У некоторых видов имеется шаровидный силикатный скелетик.

Жгутиковые отличаются постоянством формы и наличием тонких протоплазматических выростов - жгутиков, служащих органоидами движения. Среди представителей этого класса встречаются организмы с различным уровнем организации и типом питания. Тело имеет овальную, эллиптическую или округлую форму. Размеры 10-20 мкм. Жгутики, расположенные на концах, обеспечивают быстрое движение. Размножаются делением, питаются бактериями. Благоприятными условиями размножения является высокое содержание органических веществ и бактерий.

Появление большого количества мелких жгутиковых всегда свидетельствует об ухудшении работы очистных сооружений. Оно связано либо с недостатком кислорода, либо с перегрузкой. Из бесцветных жгутиковых чаще встречаются *Oicomonas*, имеющие один плавательный жгутик, и *Bodo*, имеющие 2 жгутика, один из которых плавательный, другой – рулевой, направленный назад.

Наиболее сложное строение из простейших имеют **инфузории**. Тело их покрыто тонкими волосками, или ресничками. Это довольно крупные организмы. Размер инфузории *Paramecium candatum* (туфелька) составляет 0,15-0,2 мм.

В зависимости от расположения ресничек инфузории бывают:

1) равноресничные, у которых вся поверхность равномерно покрыта ресничками. Из равноресничных наиболее часто встречаются *Paramecium*, *Ciclidium glaucoma*;

2) брюхоресничные - на брюшной поверхности ресничек больше, чем на других частях. Имеют плоское тело, к ним относятся роды: *Stylonichia*., *Aspidisca*, *Euplotes*, *Oxytricha*.

Аспидиска и эуплетус - овальные клетки, очень подвижные, быстро передвигаются по поверхности активного ила или плавают в воде;

3) разноресничные имеют реснички различной длины, обычно более длинные у ротового отверстия;

4) круглоресничные (*Peritricha*) круговое расположение ресничек вокруг тела. Круглоресничные инфузории обычно ведут прикрепленный образ жизни. Они имеют характерную форму: стебелек, закрепленный на твердой поверхности, заканчивающийся овальной клеткой, напоминающей колокольчик. Реснички у них расположены на переднем крае тела, окружая околоротовой диск. Особенностью их является способность к сокращению тела или стебелька. Среди них встречаются одноклеточные (воронка на длинной ножке) (*Vorticella*) и колониальные формы (*Opercularia*, *Carchesium*, *Epistilis*), (рис. 4.8). В определенных условиях у круглоресничных инфузорий наблюдается образование свободноплавающей стадии («бродяжки»), которая способствует их расселению.

Инфузории питаются бактериями, взвешенными органическими примесями. У инфузорий обычно имеется два ядра: большое и малое. У некоторых несколько ядер.

Пища попадает сначала в околототовое углубление и через ротовое отверстие в глотку. Затем переводится в эндоплазму, образуя пищеварительную вакуоль, т.е. у инфузорий внутриклеточное пищеварение. Остатки пищи выводятся через определенные участки клетки. Ресничная инфузория *Epistilis* играет важную роль в образовании хлопьев активного ила.

Особую группу составляют **сосущие инфузории** (*Suctoria*), ведущие паразитический образ жизни. Вместо ресничек у них особые, полые внутри щупальца, с помощью которых они высасывают содержимое клеток. Питаются они другими простейшими.

Обособленную группу животных организмов составляют **коловратки** (*Rotatoria*). Они родственны некоторым группам низкоорганизованных червей. Коловратки - многоклеточные организмы, имеющие членистое строение панциря. Размер их достигает 2 мм. Снизу панцирь заканчивается узким отверстием, из которого выходит нога коловратки, оканчивающаяся двумя пальцами. У коловраток уже имеется примитивная пищеварительная система, состоящая из ротовой полости, глотки, пищевода, желудка и узкой кишки. Продукты обмена удаляются с помощью выделительных органов. Реснички служат для направленного тока воды. Кровеносная и дыхательная системы у коловраток отсутствуют. Питаются коловратки бактериями, простейшими, органическими веществами. У большинства коловраток имеются глаза в виде красных пятен. Коловратки - аэробы, чувствительные к недостатку кислорода. Предельно высокой температурой для них является 50°C. При неблагоприятных условиях образуют цисты (при этом голова и нога втягиваются в панцирь).

Коловратки используются в качестве индикаторных организмов при оценке работы очистных сооружений биологической очистки.

Черви (*Vermes*). При характеристике процесса минерализации органических веществ в естественных и искусственных условиях исследователи отводят значительную роль круглым (*Nematodes*) и малощетинковым (*Oligochaeta*) червям.

Круглые черви обладают круглым, нитевидным, лишенным всякой пигментации телом, обычно суженным на обоих концах. Это довольно просто организованные животные, у которых кровеносная и дыхательная системы отсутствуют.

Пищеварительная система трубчатой формы состоит из мускулистого пищевода и кишки, проходящей через все тело. Пища у нематод поступает в организм через ротовое отверстие, которое расположено в центре головного конца тела. Выделительную функцию выполняет выделительная кишка, которая с помощью узкого протока открывается наружу особой выделительной порой, расположенной чаще всего в области пищевода или в конце организма. Наружные покровы тела нематод состоят из двух плотно соединенных вместе слоев. Верхний слой представляет собой прозрачную, бесцветную, очень прочную, малопроницаемую для посторонних веществ оболочку. В результате этого некоторые виды нематод могут долго находиться в неблагоприятных для них средах. Нематоды раздельнополые. Размножаются обычно откладыванием яиц. Количество яиц у свободноживущих форм исчисляется десятками

экземпляров, тогда как у паразитов их число достигает миллионов. Цикл развития - от 5-6 суток до месяца.

Нематоды имеют нервную систему, представленную нервным кольцом, расположенным вокруг пищевода. Глазки служат для восприятия световых ощущений и имеются только у некоторых свободноживущих нематод, а у паразитов отсутствуют.

Нематоды широко распространены в природе, они встречаются в соленой воде, пресных водоемах, почве, на растениях, а также паразитируют в человеческом и животном организмах.

Свободноживущие водные нематоды являются преимущественно донными организмами. Многие виды встречаются в фауне обрастаний (сваи, пристани и т.д.).

Нематоды - характерные представители активной пленки на биологических окислителях, искусственно созданных для очистки сточных вод.

Малощетинковые кольчатые черви (Oligochaeta) состоят из сегментов. Тело олигохет снабжено щетинками. У некоторых олигохет на заднем конце тела имеются жаберные придатки. Если их нет, то организм дышит через кожу. Весь организм построен по членистому типу, органы повторяются в каждом членике.

У олигохет как половое, так и бесполое размножение путем деления. После расчленения происходит регенерация недостающей части.

На биологических окислителях из малощетинковых червей наиболее часто встречаются *Aeolosoma* и *Nais*. У *Aeolosoma* пучки щетинок расставлены, кожные включения от красного до молочно - белого оттенков. Размножение бесполое.

У *Nais* на наружном конце щетинки расчленены. Источником питания червей являются иловые частички, которые пропускаются через организм, минерализуются. Остатки выбрасываются в среду в более укрупненном виде, что способствует осветлению очищаемой жидкости. Наличие большого количества червей свидетельствует о заиливании биофильтра.

В пресной воде встречаются также **низшие ракообразные**. Представителями низших ракообразных являются **ветвистоусые** и **веслоногие рачки**. К веслоногим рачкам относятся циклопы (*Cyclops*), к ветвистоусым - дафнии (*Daphnia*). Циклопы перемещаются с помощью ног, расположенных на груди животного, а дафнии - с помощью антенн, оснащенных плавательными щетинками.

Низшие ракообразные являются активными фильтраторами. Они процеживают через свой организм большое количество воды, задерживая взвешенные вещества, частично их минерализуют, а остатки выбрасывают наружу в компактном (склеенном) состоянии. Пищей для них являются бактерии, мелкие водоросли, органическая взвесь. Сами рачки служат пищей для рыб.

Низшие ракообразные могут быть носителями личинок паразитических червей, например, веслоногие рачки при фильтровании воды заглатывают личинки ленточного червя, паразитирующего в организме человека и

животных. Личинка, попав в рыбу, интенсивно развивается. При употреблении недостаточно проваренной рыбы человек заражается личинками, которые со временем превращаются во взрослого червя, достигающего 17 м длины. Причем человек одновременно может быть заражен несколькими червями, так как в одной рыбе одновременно встречаются до 2000 личинок.

Контрольные вопросы

1. Строение, размножение и состав грибов.
2. Систематика грибов.
3. Зеленые водоросли.
4. Синезеленые и диатомовые водоросли.
5. Охарактеризуйте простейших- саркодовые и жгутиковые.
6. Инфузории. Классификация, питание.
7. Коловратки.
8. Характеристика червей.
9. Низшие ракообразные.

Лекция 5. Физиология микроорганизмов

Виды обменов веществ - конструктивный и энергетический

Роль ферментов, их классификация

Химический состав клеток микроорганизмов

Механизм питания микроорганизмов

1. Виды обменов веществ - конструктивный и энергетический.

Физиология изучает процессы, протекающие в живом организме, и их закономерности. Взаимодействие организма со средой проявляется в обмене веществ и энергии (**метаболизм**). Он включает в себя два процесса:

- **конструктивный обмен** (ассимиляция, или анаболизм – от греч. *Anabole* – подъем,) - совокупность биохимических реакций, в процессе которых усваиваются вещества, поступающие из окружающей среды, и идет создание биомассы клетки;
- **энергетический обмен** (диссимиляция, или катаболизм) – сущность энергетического обмена заключается в разрушении веществ, содержащихся в организме, преимущественно в результате гидролитических и окислительных процессов, сопровождающихся выделением энергии, необходимой для биосинтеза.

Оба процесса идут в клетке одновременно и сочетаются друг с другом. Энергия, полученная клеткой в процессе обмена веществ, аккумулируется в соединениях, содержащих химические связи, при разрыве которых выделяется большое количество энергии (макроэнергетические).

Часто это соединения с фосфатными связями, например, аденозинтрифосфат (АТФ). По мере надобности эти вещества подвергаются гидролитическому распаду, сопровождающемуся выделением энергии.

Продукты жизнедеятельности микроорганизмов (метаболиты) могут выводиться из клетки или откладываться в ней, образуя разного рода включения. Микроорганизмы в течение суток могут переработать такое количество питательных веществ, которое в 20-40 раз превышает их массу.

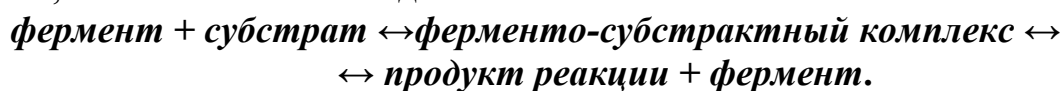
2. Роль ферментов, их классификация. Биохимические реакции обмена веществ и энергии протекают в присутствии биологических катализаторов – **ферментов**. Ферменты катализируют превращения веществ, поступающих из окружающей среды и образующихся внутри организма.

Биологические катализаторы, выделяемые во внешнюю среду и переводящие сложные соединения в форму, способную усваиваться организмом, называются **экзоферментами**.

Биохимические процессы, протекающие внутри клетки, осуществляются при участии **эндоферментов**.

По химическому строению ферменты могут быть простыми (протеины) или сложными (протеиды) белками. Активность ферментов-протеинов обусловлена наличием активных центров в белковой молекуле. Молекула протеидов включает активные группы, содержащие сложные органические соединения или металлы (железо, кобальт и др.). Белковая часть молекулы фермента называется **фероном** (носитель), а добавочная – **агоном** (активная группа). Если агон может существовать отдельно, то он называется **коферментом**. Коферменты обычно являются промежуточными переносчиками электронов или некоторых атомов и атомных групп (водорода, аминогрупп и др.) от одних соединений к другим. В состав коферментов часто входят витамины.

Механизм действия ферментов основан на снижении энергии активации взаимодействующих молекул. Процессы, протекающие при ферментативном катализе, можно записать в виде схемы



Для ферментов характерно значительное снижение энергии активации по сравнению с обычными катализаторами. Например, для разложения перекиси водорода на кислород и воду требуется энергия активации 75,2 кДж/моль. В присутствии катализатора (Pt) она снижается до 50,2 кДж/моль, а фермент **каталаза** уменьшает ее до 8,3 кДж/моль.

Действие ферментов строго специфично. Активность их зависит от pH, температуры, присутствия ряда химических соединений. Некоторые ионы повышают активность ферментов (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}), так же действует и аскорбиновая кислота. В зависимости от типа химических реакций, проходящих при каталитическом воздействии ферментов, различают **шесть классов ферментов** (согласно современной классификации и номенклатуре):

1) **гидролазы**, ускоряющие процессы разложения или синтеза, проходящие с участием воды. Например, липаза ускоряет гидролиз жиров с образованием глицерина и высших жирных кислот;

2) **оксидоредуктазы** катализируют окислительно-восстановительные реакции;

3) **трансферазы** ускоряют реакции передачи атомных групп от одних соединений к другим;

4) **лиазы** катализируют реакции распада с образованием простых соединений (CO_2 , NH_3 , H_2O);

5) **лигазы** определяют возможность синтеза сложных соединений из простых, например, процессы синтеза белков;

6) **изомеразы** катализируют превращения органических соединений в их изомеры. Изомеризации подвергаются аминокислоты, органические кислоты и углеводы.

3. Химический состав клеток микроорганизмов. Общая масса клетки на 75-90% составляет вода, так как все биохимические процессы проходят в водных растворах. С помощью воды осуществляется транспорт питательных веществ в клетку и вывод из нее продуктов обмена.

Основными химическими элементами, составляющими основу органического вещества, являются углерод, азот, водород, кислород, фосфор, сера. Наиболее важная часть любого живого организма – **белок**. Белки являются пластичными материалами, из которых построены клетки. Они могут использоваться в качестве энергетического материала, входят в состав ферментов. Клетки микроорганизмов содержат большое количество белков, отличающихся по химическому составу и строению. Они определяют специфичность микроорганизмов и их изменчивость под воздействием окружающей среды. В молодых клетках содержится большое количество белковых соединений.

Особую роль в синтезе белков выполняют нуклеиновые кислоты – РНК и ДНК, обуславливающие передачу наследственных свойств организма. Содержание белковых соединений зависит от условий внешней среды, при достаточном количестве питательных веществ часть белков может откладываться в запас.

В клетках микроорганизмов всегда содержатся **углеводы**, причем для каждого вида состав их различен. Количество углеводов в зависимости от условий изменяется от 10 до 30%. Углеводы являются одним из основных источников энергии.

Жиры служат запасным веществом, количество их зависит от наличия питательных веществ в окружающей среде. У некоторых бактерий они выполняют защитную функцию, входя в состав капсулы, которая непроницаема для растворов, содержащих токсичные для бактерии соединения. Жиры, как и углеводы, являются энергетическим материалом.

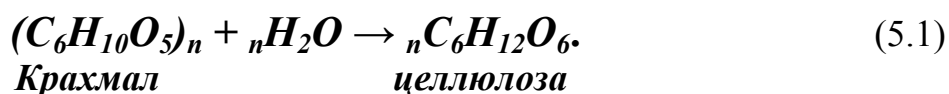
В состав бактериальных клеток входят **макро- и микроэлементы**. Неорганические соединения составляют 1/300 массы клетки. Основными элементами являются S, Fe, Cl, Ca, Na, K, Mg – они участвуют в реакциях обмена веществ. Многие из микроэлементов – Li, Mn, J, Co, Cu, Zn и др. – входят в состав ферментов.

Нормальное развитие микроорганизмов наблюдается лишь тогда, когда в водном растворе присутствуют все элементы, необходимые для построения живого вещества и осуществления жизнедеятельности клетки.

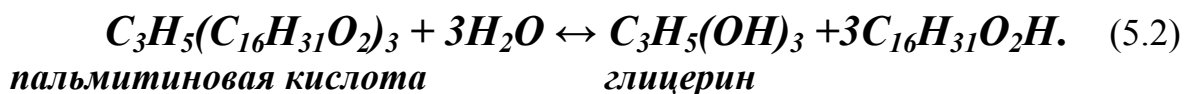
Кроме того, для роста, размножения и жизнедеятельности микроорганизмов необходимо непрерывное поступление энергии. Эти потребности удовлетворяются в **процессе обмена веществ**.

4. Механизм питания микроорганизмов. По характеру питания микроорганизмы близки к растениям. Твердые вещества не пригодны для их питания. Поэтому любой питательный субстрат, любое органическое вещество животного, растительного или синтетического происхождения, прежде чем стать продуктом питания для микроорганизма, подвергается воздействию микробных ферментов для перевода в усвояемое состояние.

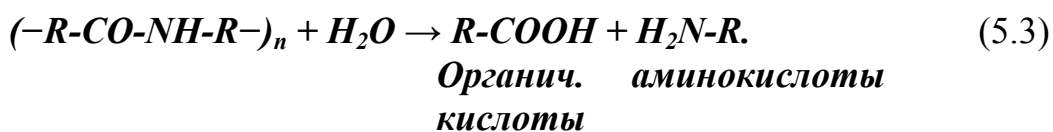
Крупные молекулы веществ, не растворимых в воде (целлюлоза, крахмал, белки), превращаются под действием ферментов в низкомолекулярные соединения, хорошо растворимые в воде. Например, целлюлоза и крахмал превращаются в глюкозу:



Тристеарин $C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3$, как и трипальмитин $C_3H_5(C_{16}H_{31}O_2)_3$, входящие в состав жиров, не проникают сквозь бактериальную оболочку, а продукты их гидролиза уже доступны микроорганизмам:



Полимерная молекула белка не пригодна для питания бактерий. Ферменты протеазы расщепляют пептидную связь белков. Полученные в результате этого органические кислоты и аминокислоты служат питательными веществами для микроорганизмов:

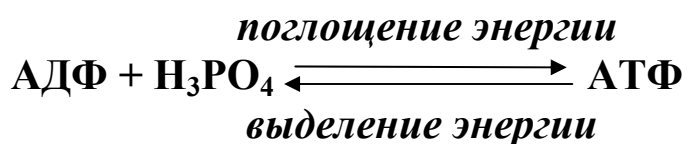


Вообще питательная ценность источников углерода зависит от химического состава и физических свойств веществ. Карбоксилы – $COOH$ имеют малую питательную ценность; радикалы с восстановленным углеродом – CH_3 , $-CH_2-$ и $CH-$ более питательны. Но легче всего усваиваются полуокисленные атомы углерода – CH_2OH , $CHON$, CON .

Наиболее доступными источниками углерода для большинства гетеротрофных микроорганизмов (усваивающие углерод, органические соединения) являются сахар, глицерин, маннит, молочная, винная, лимонная кислоты. Микроорганизмы, которые переводят световую энергию и энергию химических связей, называются **фототрофами**. Микроорганизмы, которые используют для биосинтеза и поддержания жизнедеятельности клетки энергию, выделяющуюся при химических превращениях, называются **хемотрофами**.

Микроорганизмы обладают способностью аккумулировать энергию в определенных макроэнергетических соединениях, содержащих химические связи, при разрыве которых выделяется большое количество энергии. Одним из таких аккумуляторов энергии является аденозинтрифосфат (АТФ), который синтезируется из аденозиндифосфата (АДФ) путем присоединения остатка фосфорной кислоты. Синтез АТФ осуществляется за счет энергии, выделяющейся при протекании ряда окислительно-восстановительных реакций. Если окисление органических веществ идет при участии кислорода, то процесс образования АТФ, сопряженный ним, называется **окислительным фосфатированием**. Процесс перехода АДФ в АТФ обратим, энергия, необходимая для обеспечения биосинтеза, выделяется при отщеплении от молекулы АТФ фосфорной кислоты.

Схематическая реакция синтеза и разложения АТФ:



Энергия, выделяющаяся при расщеплении АТФ, расходуется также на теплообразование, обеспечение транспорта питательных веществ через цитоплазматическую мембрану и выполнение других реакций. Таким образом, обмен веществ неотделим от обмена энергии: **при конструктивном** обмене она потребляется, а **энергетический обмен** обуславливает накопление энергии.

В настоящее время считают, что передвижение веществ из внешней среды в бактериальную клетку обеспечивается, по крайней мере, четырьмя группами механизмов: пассивной и активной диффузиями, стереоспецифическими пассивной и активной диффузиями. Из них только пассивная диффузия (проникновение веществ через клеточную оболочку благодаря мозаичному строению микробной оболочки) не требует затрат энергии, в отличие от трех остальных механизмов. Полупроницаемость клеточной стенки и цитоплазматической мембраны обуславливает осмотические свойства клеток микроорганизмов. Все микроорганизмы обладают внутриклеточным осмотическим давлением. Внутреннее осмотическое давление бактерий равно 3-6 атм., оно вдвое ниже, чем в клетках животных.

Осмотические явления играют важную роль в питании микробов. Если клетку поместить в гипотонический раствор, наблюдается ее набухание и даже разрыв в результате явления, называемого **плазмолизмом**. В микробиологии в качестве физраствора используется 0,5%-ный раствор NaCl, а 0,85%-ный физраствор не пригоден для бактерий.

Большое значение для микроорганизмов имеет рН среды. С изменением рН резко меняется проницаемость клеточной оболочки, ускоряется или тормозится деятельность микробных ферментов.

У бактериальных клеток имеется электрический заряд, который всегда имеет отрицательный знак. Если в сосуд с бактериями, находящимися во взвешенном состоянии в нейтральной водной среде, погрузить два электрода и

пропустить ток, то бактерии передвигаются к аноду. Это явление называется **электрофорезом** и свидетельствует о наличии у бактерий отрицательного электрокинетического потенциала. Отрицательный заряд бактерий обусловлен большим количеством кислых фосфолипидов. У разных бактерий потенциал неодинаков, он зависит от электрохимических свойств веществ, входящих в поверхностный слой бактериальной клетки.

Величина электрокинетического потенциала зависит от характера среды, окружающей клетку (рН). Если в среду добавить катионы или ее подкислить, отрицательный заряд поверхности бактерии постепенно уменьшается. Значение рН, при котором отсутствует всякое движение бактерий при прохождении тока и электрокинетический потенциал равен нулю, называется **изоэлектрической точкой**. Для большинства бактерий изоэлектрическая точка лежит в зоне рН 3,0-4,0.

Реакция среды влияет на величину и знак заряда. При рН ниже изоэлектрической точки клетки заряд поверхности клетки положительный, а если рН выше изоэлектрической точки, то заряд отрицательный. Установлено, что электрический заряд поверхности клетки обуславливает адсорбцию из среды ионов с противоположным зарядом.

При определенном рН субстрата между клеткой микроба и средой начинается обменная адсорбция, которая приводит к поступлению питательных веществ в клетку.

Контрольные вопросы

1. Роль обмена веществ микроорганизмов - конструктивного и энергетического.
2. Для чего нужны ферменты?
3. Механизм питания микроорганизмов.
4. Химический состав клеток микроорганизмов.
5. В чем отличие фототрофов от хемотрофов?
6. Процесс превращения органических веществ под действием ферментов.

СОДЕРЖАТЕЛЬНЫЙ МОДУЛЬ 1.2

МИКРООРГАНИЗМЫ В ПРОЦЕССАХ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД

Лекция 6. Процессы самоочищения водоемов. Сапробность

Биоценозы открытых водоемов

Зоны сапробности

Самоочищение водоемов

Санитарно-бактериологическая оценка воды

1. Биоценозы открытых водоемов. Вода различных водоемов содержит достаточное количество питательных веществ для развития микроорганизмов. В связи с этим воды рек по течению выше городов всегда беднее бактериями, чем в самом городе и ниже его.

В водоемах со стоячей водой (пруды, озера) в прибрежной зоне, непосредственно соприкасающейся с почвой, количество микробов всегда больше, чем в удаленных от берега местах. Наибольшее количество микробов приходится на глубину от 5 до 20 м.

Наибольшее количество бактерий отмечается с мая по июль (благодаря температурным изменениям). Количество бактерий в воде резко возрастает в дождливую погоду и уменьшается в солнечную.

Ил гораздо богаче бактериями, чем вода. Причем максимальное их количество приходится на самый поверхностный слой ила, образуя как бы пленку из бактерий, играющую важную роль в жизни водоема. Особенно велика роль нитчатых серобактерий и железобактерий. Сероводород окисляется серными бактериями в сульфаты.

В каждом грамме ила содержится:

- 1) от 100 тыс. до 1 млн. бактерий, восстанавливающих сульфаты;
- 2) от 10 до 100 тыс. тионовых бактерий;
- 3) около 1000 нитрифицирующих бактерий;
- 4) от 10 до 100 тыс. денитрифицирующих бактерий;
- 5) примерно по 100 анаэробных и аэробных разрушителей клетчатки.

Встречаются в иле бактерии, окисляющие метан и водород, возбудители брожений, анаэробный фиксатор атмосферного азота и др. В воде существуют преимущественно бесспорные виды (97%), в иле – в основном спорные (около 75%).

Много бактерий содержится в водах морей и океанов, (табл. 6.1). В 1 мл воды неглубоких озер содержится примерно 250000 бактерий. В морском иле на 1 г ила приходится $367 \cdot 10^6$ бактерий, которые весят около 0,3 мг.

Подземные воды – воды артезианских колодцев и ключевые – содержат в 1 мл около десятка бактерий.

Небольшое количество бактерий находится в дождевой воде и в выпавшем снеге (в 1 мл не более 10 бактерий).

Основное значение при оценке санитарного режима водоемов имеют бактерии – сапрофиты, разлагающие органическое вещество. По количеству сапрофитов в поверхностных водах можно судить о санитарном состоянии водоемов. Сапрофиты – постоянные представители микрофлоры человека и животных.

Таблица 6.1 – Классификация водоемов по количеству микроорганизмов

Количество колоний, вырастающих на питательной среде в 1 мл воды	Оценка водоемов
~10	Очень чистые
10-100	Чистые
100-1000	Умеренно загрязненные
1000-10000	Загрязненные
10000-100000	Грязные
>100000	Очень грязные

Мир организмов, населяющих водоемы, разнообразен. Определяется это разнообразие экологическими факторами и способностью микроорганизмов приспосабливаться к окружающей среде. **Экология** – наука о взаимоотношениях животного или растительного организма с окружающей средой. Способность приспосабливаться к окружающей среде приводит к возникновению биоценозов.

Биоценозом называется совместное существование организмов, принадлежащих к различным физиологическим типам, обусловленное различием их функций. Например, бактерии, разлагающие белки с выделением сероводорода, создают среду, благоприятную для жизнедеятельности серных бактерий. Микробы, поглощающие кислород, дают возможность развиваться около себя анаэробам.

По месту обитания организмов различают биоценозы: бентос, планктон, перифитон.

Бентос – организмы, заселяющие дно, а также разрастающиеся на всевозможных предметах. Это прочно прикрепленные организмы или подвижные ползающие формы, связанные в своем существовании с твердым телом.

Планктон – растительные и животные организмы, всю жизнь проводящие во взвешенном состоянии в воде (фито- и зоопланктон).

Перифитон – водные организмы обрастаний.

Микроорганизмы водоема принимают активное участие в очистке воды. Биологический метод исследования водоемов основан на том, что каждой степени загрязненности воды соответствует определенная микрофлора и микрофауна. Способность гидробионтов, обусловленную их физиологическими особенностями, жить в воде с определенной степенью загрязнения органическими соединениями принято называть **сапробностью**.

2. Зоны сапробности. Для каждой зоны сапробности (степени загрязненности) установлены показательные организмы, наличие которых в

водоеме свидетельствует об определенном качестве воды. Все воды разделяются на четыре категории (зоны), (табл. 6.2):

1) **полисапробная зона** (зона сильного загрязнения) соответствует свежему загрязнению водоема бытовыми сточными водами. Она характеризуется наличием большого количества сложных белковых соединений. Свободный кислород отсутствует, поэтому протекают биохимические процессы, имеющие восстановительный характер. В результате разложения органических соединений образуются сероводород, метан, диоксид углерода, аммиак. Основное население этой зоны представлено большим количеством бактерий. Численность их может достигать миллиона и более в 1 мл воды. Развиваются также бесцветные жгутиковые, грибы, в иле находятся малощетинковые черви – тубифициды. Общее количество видов – 30-36.

2) **α -мезосапробная зона** характеризуется большей степенью распада органических веществ. В воде появляется небольшое количество кислорода, который обуславливает протекание окислительно-восстановительных процессов. В результате распада белковых соединений содержится большое количество аминокислот, аммиака. H_2S и CO_2 присутствуют в небольших количествах. Количество бактерий – сотни тысяч в 1 мл. Распространены жгутиковые, грибы, инфузории. Встречаются сине-зеленые и зеленые водоросли, коловратки. Общее количество видов – 70-76.

3) **β -мезосапробная зона** характеризуется наличием продуктов минерализации органических соединений – аммонийных солей, нитритов, нитратов. Содержание органических соединений небольшое. В воде достаточно кислорода, характер протекающих процессов – окислительный. Резко увеличивается количество видов – 116-133. Количество бактерий – десятки тысяч в 1 мл. Показательным является преобладание зеленых, диатомовых, сине-зеленых водорослей. Широко представлены коловратки, инфузории, низшие ракообразные, насекомые, рыбы.

Это зона водоемов со стабильным санитарным режимом.

4) **олигосапробная зона** – зона чистой воды. Органические вещества отсутствуют. Азот присутствует в форме нитратов. Вода насыщена кислородом. Количество бактерий невелико (до 1000 в 1 мл).

Иногда выделяют пятую зону – **катаробную**, соответствующую самым чистым водам. К этой зоне относятся грунтовые, пластовые, минеральные воды, очищенные природные воды, обработанные хлором, озоном.

При оценке воды нужно учитывать не отдельные организмы, относящиеся к шкале сапробности, а сумму видов, характерную для данной зоны. Следовательно, санитарную оценку воды надо основывать на биоценозах, свойственных данной зоне сапробности.

3. Самоочищение водоемов. Химический состав каждого водоема на поверхности Земли формируется под воздействием комплекса факторов, свойственных данной территории в естественных условиях. Химический состав подвержен изменениям по сезонам.

Таблица 6.2 – Основная характеристика зон сапробности

Показатель	З О Н А			
	Полисапробная	α -мезосапробная	β -мезосапробная	Олигосапробная
Кислородные условия	<i>Анаэробные</i>	полуанаэробные	Аэробные	
Азотистые соединения	Белковые вещества	Аммиак, аминокислоты	Аммонийные соли, нитриты, нитраты	Нитраты
Сероводород	Много	Порядочно	Мало	Нет
Загниваемость	Загнивает		Не загнивает	
Содержание бактерий в 1 мл воды	Сотни тысяч, миллионы	Сотни тысяч	Десятки тысяч	Сотни, десятки
Преобладание отдельных видов	Очень сильное	Сильное	Слабое	Обычно слабое
Разнообразие видов	Очень малое	Небольшое	Значительное	Очень большое
Смена сообщества	Катастрофическая	Часто катастрофическая	Довольно медленная	
Потребность организмов в кислороде	Ничтожная	Слабая	Большая	Очень большая
Главные группы организмов	Бактерии, бесцветные жгутиковые, серные бактерии, инфузории	Грибы, бактерии, синезеленые водоросли, зеленые жгутиковые	Синезеленые, диатомовые, зеленые водоросли, зеленые жгутиковые, инфузории, коловратки, ракообразные	Зеленые, диатомовые водоросли, перидиней, хризомонады, коловратки, меланки, губки, ракообразные, рыбы

Изменения, возникающие под влиянием загрязнения сточными водами, создают в водоеме новые концентрации компонентов, не соответствующие условиям водоема.

Под действием **физических** (разбавление, осаждение грубодисперсных примесей), **физико-химических** (коагуляция коллоидов), **химических** (гидролиз, окислительно-восстановительные процессы) и **биологических** процессов качество воды в водоеме спустя некоторое время снова улучшается, т.е. происходит **самоочищение водоема**.

В процессе самоочищения от органических веществ основная роль принадлежит биологическим процессам.

В водоемах с проточной водой самоочищение осуществляется быстрее, чем в водоемах с замедленным стоком. Это связано с лучшей аэрацией воды и большей скоростью окисления органических веществ.

Донные отложения водоемов также подвергаются биохимическому распаду, но характер процессов здесь иной, чем в толще воды. Донный ил является хорошим сорбентом органических веществ, на его поверхности происходят интенсивные биохимические процессы.

Различают **три группы биоценоза дна**:

- 1) накопители органического вещества;
- 2) минерализаторы;
- 3) захоронители.

В малозагрязненных водоемах население дна представлено в основном минерализаторами (90%). В искусственных каналах, облицованных щебнем, бетоном, создаются условия для развития гидробионтов-накопителей. Минерализация органических веществ в них затруднена. Условия для накопления органических веществ создаются и в водохранилищах. Обычно здесь в результате самоочищения в донных отложениях остается до 50% органических веществ.

Скорость и интенсивность процессов самоочищения зависят от температуры. Так, при температуре 10°C наибольшее количество бактерий обычно наблюдается через 50 часов, а при 20°C – через сутки. Процесс самоочищения водоема при значительном загрязнении проходит через все зоны сапробности с соответствующей сменой биоценозов. Разложение сложных органических соединений в аэробных условиях осуществляется микроорганизмами до простых форм.

В анаэробных условиях образуются продукты распада, которые могут обладать большей токсичностью, чем исходные, например, меркаптаны, органические кислоты, сероводород, метилированные производные ртути и др. Основная роль в самоочищении водоема от органических биологически разлагаемых веществ принадлежит бактериям. Кроме них в этом процессе участвуют водоросли, грибы, простейшие. Между различными группами гидробионтов существует взаимосвязь.

Процесс биологического самоочищения водоема осуществляется всем сообществом гидробионтов, образующих единую экологическую систему. Загрязнение водоема токсичными веществами способствует нарушению

целостности экосистемы и замедлению процессов самоочищения. Активность биологического самоочищения зависит от факторов внешней среды, но эта способность не безгранична.

Роль зоопланктона в процессе самоочищения заключается в снижении биомассы и продукции фитопланктона. Одновременно продукты жизнедеятельности зоопланктона способствуют стимулированию процесса фотосинтеза и приросту биомассы фитопланктона. Таким образом, зоопланктон определенным образом регулирует количество фитопланктона в водоеме.

В процессе самоочищения важную роль играет **высшая водная растительность**. Водные растения способствуют улучшению санитарного режима водоема, являются потребителями неорганических форм биогенных элементов, но при их массовом развитии происходит засорение водоема и в период отмирания наблюдается самозагрязнение водоема растительными остатками.

Большую роль в разложении органических веществ выполняют **организмы обрастаний** (перифитон). Роль водорослей заключается в продуцировании кислорода и создании благоприятных условий для микроорганизмов, окисляющих органические вещества. Кроме того, они сами используют органические соединения в качестве питательных веществ.

Простейшие способствуют удалению тонкой взвеси и коллоидных примесей, а также уничтожают бактерии. Количество бактерий, которое может перерабатываться простейшими, достигает 30000 клеток для одной особи.

Коловратки, низшие ракообразные способствуют коагуляции и осаждению взвешенных веществ.

Микроорганизмы способны аккумулировать радиоактивные изотопы.

Попадающие в водоем пестициды, ПАВ, соли тяжелых металлов ингибируют (замедляют) процессы биологического самоочищения, а при высоких концентрациях вызывают отмирание организмов биоценоза.

Мощным биологическим фактором самоочищения водоемов и почвы является микроорганизм *Bdellovibrio bacteriovorus* - “бактериопиявка”, выделенный из почвы. Этот вид бактерий был открыт в 1962 году *Штольцем*. Это вид, являющийся паразитом бактерий; это сравнительно небольшой, очень подвижный вибрион, с очень толстым жгутиком. Встретив бактерию-хозяина, он прикрепляется к ее клеточной стенке концом, противоположным тому, на котором расположен жгутик, и в ней размножается. На рисунке 6.1 примерно показано, как это выглядит на электронной фотографии.

Этот микроорганизм обладает высокой бактерицидной активностью ко многим видам бактерий, в том числе патогенным.

Бделловибрио не обладает специфичностью и использует для питания не только живых, но и мертвых бактерий. В процессе самоочищения водоема происходят как процессы химического, так и биохимического окисления.

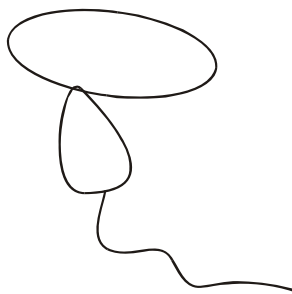


Рис. 6.1 – *Bdellovibrio bacteriovorus* - “бактериопиявка”

Завершается процесс самоочищения нитрификацией. Химическое окисление продолжается несколько часов и зависит от природы соединений. Биохимическое окисление длится несколько суток. Если выразить концентрацию органических примесей через БПК, то можно охарактеризовать скорость разложения их через константу K , так как биохимический распад можно описать уравнением реакции первого порядка (учитывающим концентрацию только одного компонента):

$$C = C_0 e^{-Kt} \quad \text{или} \quad \ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -Kt, \quad (6.1)$$

пользуясь которым, можно вычислить константу скорости биохимического разложения органического вещества K . Для расчета K пользуются методом определения БПК по кратным срокам, т.е. через 2 и 4, 3 и 6, 5 и 10 суток. Подставляя значение БПК вместо C , получаем

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{\text{БПК}_{2t}}{\text{БПК}_{2t} - \text{БПК}_t}, \quad (6.2)$$

где t - время в сутках.

Со сточными водами в водоем попадают и патогенные микроорганизмы. Поэтому процессы бактериального и вирусного самоочищения имеют большое значение для предотвращения инфекций.

Длительность выживания патогенных микроорганизмов зависит от многих факторов:

- 1) биологические особенности возбудителей заболевания;
- 2) количество попадающих в водоем микроорганизмов;
- 3) особенности водоема;
- 4) температурный режим;
- 5) комплекс гидрометеорологических факторов;
- 6) сопутствующая микрофлора и микрофауна.

При большом бактериальном загрязнении воды патогенными микроорганизмами срок их выживания в водоеме увеличивается. Этому способствует и поступление в водоем биологического субстрата, на котором развиваются патогенные микробы.

Такие патогенные микроорганизмы, как возбудители холеры, дизентерии, переносят замораживание, поэтому вспышка инфекционных заболеваний может произойти в теплый период следующего года.

В процессе самоочищения и при биологической очистке сточных вод большую роль играют бактериофаги. Сильным бактерицидным действием обладают продукты жизнедеятельности некоторых водорослей и грибов.

Патогенные микроорганизмы поедаются простейшими: реснитчатыми инфузориями, амебами, коловратками, ракообразными и червями.

Биоценоз водоемов делится на две группы:

- **собственный (автохтонный)**, обусловленный физическими и химическими свойствами воды и ее происхождением;
- **аллохтонный**, поступающий из различных источников загрязнения.

В незагрязненных водоемах и водотоках, в которых развиваются нормальные флора и фауна, нет условий для развития патогенных болезнетворных бактерий. Отрицательное влияние на их жизнедеятельность прежде всего оказывает температура окружающей среды. Паразитируя в организме человека, эти микробы адаптировались к температуре +37°C, а в природной воде температурный режим для них оказывается неблагоприятным.

Кроме того, в природных водах недостаточно питательных веществ и солей, привычных для патогенных бактерий. Не способствует их жизнедеятельности также развитие высшей водной растительности, продуцирующей кислород в результате фотосинтеза, и наличие микробов-антагонистов, выделяющих в воду антибиотические вещества.

При значительном загрязнении водоема хозяйственно-бытовыми сточными водами, а также в водохранилищах в период их цветения сапрофитная и даже патогенная микрофлора может не только сохраняться в воде, но и размножаться. Основными источниками поступления патогенных микроорганизмов в водоемы являются хозяйственно-бытовые сточные воды.

4. Санитарно-бактериологическая оценка воды основывается на учете в ней преимущественно поступающей извне аллохтонной микрофлоры, представители которой являются показателями ее бактериального загрязнения.

Бактериальными показателями загрязнения воды являются:

1) сапрофитные бактерии, способные расти на стандартных мясопептонных питательных средах и указывающие на поступление в водоем разлагающихся органических веществ; загрязнение сапрофитами выражается микробным числом;

2) бактерии – обитатели кишечника человека и домашних теплокровных животных, указывающие на загрязнение воды фекальными массами.

Наиболее общепринятым бактериологическим показателем фекального загрязнения воды являются **бактерии группы кишечной палочки *Escherichia coli***. Существует три типа кишечной палочки, отличающихся культуральными свойствами, а также группа *B. paracoli* (подобные коли). Однако в стандартных методах исследования проводится учет в целом всей группы кишечной палочки.

Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) являются основным показателем при оценке бактериального загрязнения питьевой воды, степени очистки и обеззараживания сточных вод, воды источников водоснабжения, морей, плавательных бассейнов.

В качестве стандартов некоторых стран (США, Великобритания) приняты энтерококки. В нашей стране они используются в качестве дополнительного теста. Они входят в состав постоянной микрофлоры кишечника человека и наряду с БГКП в огромных количествах содержатся в сточных водах.

Для оценки санитарного режима водоемов может быть использовано отношение БГКП к группе энтерококков. При загрязнении водоема сточными водами, не подвергавшимися обеззараживанию, БГКП преобладают над группой энтерококков. При обеззараживании сточных вод БГКП отмирают быстрее и соотношение числа БГКП к количеству энтерококков уменьшается почти до единицы.

В крупных городах к качеству воды по бактериологическим показателям предъявляются более строгие требования: коли-индекс не более 2, коли-титр не менее 500. При наличии бактериального загрязнения воды выше допустимых норм проводятся дополнительные исследования на присутствие бактерий – показателей свежего фекального загрязнения – кишечных палочек преимущественно *Escherichia coli*. Наличие их устанавливают по способности ферментировать лактозу до кислоты и газа при 43°C в присутствии ингибиторов посторонней микрофлоры.

СанПиН на питьевую воду предусматривает отсутствие в воде микроорганизмов зоо- и фитопланктона, видимых невооруженным глазом. Поэтому для контроля эффективности процессов очистки и обеззараживания воды на очистных сооружениях водопровода проводится **гидробиологический анализ**. Результаты гидробиологического анализа выражают числом клеток микроорганизмов в 1 м³ воды. В этом случае, если хотя бы в одной из исследуемых проб коли-индекс превышает 10000, необходимо проведение дополнительных исследований для уточнения и идентификации бактериального загрязнения: энтерококков, бактериофагов, кишечных палочек, патогенных кишечных микроорганизмов. Наличие *Escherichia coli* в количестве более 1000 в 1 л воды указывает на свежее загрязнение водоема бытовыми сточными водами. Отношение числа БГКП к количеству *Escherichia coli* в таком случае обычно меньше 10. Такой водоем не может быть использован для водоснабжения. На наличие фекального загрязнения указывает и значительное количество энтерококков в пробе воды (более 1000).

Для характеристики качества воды подземных водоисточников проводится санитарно-бактериологическое обследование на общее содержание бактерий, БГКП и дополнительно на энтерококки, так как они более устойчивы к действию низкой температуры и имеют более длительный период выживания в подземных водах сравнительно с БГКП.

Загрязнение водоема проявляется в нарушении **биологического равновесия**, в создании которого участвуют все микроорганизмы водоема:

- 1) изменение физических, физико-химических свойств воды, токсичное действие на гидробионты;
- 2) воздействие на процессы, протекающие в биоценозах водоемов;
- 4) стабилизация условий в водоеме в процессе самоочищения.

Интенсивность, характер и продолжительность воздействия определяются свойствами загрязнений. Так, соединения-восстановители, легко окисляющиеся растворенным в воде кислородом, вызывают резкое нарушение санитарного режима водоема сразу же после спуска сточных вод. И наоборот, некоторые биологически неразлагающиеся органические соединения (хлорорганические пестициды) могут обнаруживаться за сотни километров от места их попадания в водоем.

Загрязнения, поступающие в водоем из внешних источников, вызывают первичное загрязнение водоема. В то же время поступающие в водоем соединения подвергаются трансформации, видоизменяются, что сопровождается изменением их свойств и степени влияния на микроорганизмы водоема. Например, соединения тяжелых металлов в природных водах быстро осаждаются, вызывая загрязнения донных отложений. Но при изменении условий (увеличение или снижение pH) растворимость их может увеличиваться, и они вызывают вторичное загрязнение воды водоема.

Развивающиеся в большом количестве растительные и животные организмы после отмирания также вызывают вторичное загрязнение водоема, способствуя повышению в нем содержания органического вещества (**эвтрофикация**).

Поступление большого количества биогенных элементов вызывает усиленное развитие высших водных растений, что способствует зарастанию и засорению водохранилищ, каналов и других водоемов. Массовое отмирание фитопланктона и водной растительности приводит к увеличению органического вещества в донных отложениях и питательных веществ в толще воды, т.е. происходит эвтрофикация водоема.

Вещества, образующиеся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов, как и сами микроорганизмы, могут стать причиной ухудшения качества воды, особенно в водоемах с замедленным стоком.

Чаще всего проявлением жизнедеятельности микроорганизмов является цветение водоемов, обрастания, появление запахов и привкусов воды.

В связи с большим гидростроительством и созданием искусственных водоемов – водохранилищ, каналов, плотин – все крупнейшие реки превратились в каскады водоемов с замедленным стоком, т.е. создались благоприятные условия для цветения воды. Например, в Днепропетровском водохранилище наблюдаются пятна цветения, в которых биомасса сине-зеленых водорослей достигает 40 кг/м^3 .

Даже небольшое цветение может значительно снизить органолептические качества воды, так как гидробионты, накапливаясь на фильтрах и разлагаясь, могут быть источником запахов и привкусов.

В глубоких водоемах цветение происходит в верхних слоях, в мелководных – по всей глубине. При цветении преобладает один или два вида микроорганизмов. В начале весны наблюдается цветение диатомовыми водорослями, при этом вода приобретает желто-коричневый цвет. Наиболее распространенными диатомовыми водорослями, вызывающими цветение, являются астерионелла (*Asterionella*), синедра (*Synedra*), мелозира (*Melosira*). В

середине лета - цветение синезеленых водорослей. Характерные представители – анабена (*Anabaena*), осциллятория (*Oscillatoria*), которые придают воде голубовато-зеленый цвет и неприятный привкус и запах. Обилие сине-зеленых водорослей ухудшает условия существования других водных организмов. Значительно снижается количество бактерий-сапрофитов. При массовом отмирании водорослей после цветения наблюдается резкое увеличение числа бактерий-минерализаторов.

Водоросли выделяют особые вещества, токсичные не только для бактерий, но и для других гидробионтов, а также для домашних животных и человека.

Поскольку органические вещества синезеленых водорослей используются анаэробными бактериями, в местах их скопления начинает бурно развиваться микрофлора, которая также может быть источником токсинов. Гнилостный распад водорослей и бурное развитие бактерий приводят к образованию аммиака, сероводорода и других газов, обеднению воды кислородом.

Существует две точки зрения на причину гибели рыб в период интенсивного развития синезеленых водорослей. Одни исследователи утверждают, что гибель рыб вызывают токсины синезеленых водорослей, другие связывают гибель рыбы с развитием гнилостных процессов, вызывающих дефицит кислорода.

Токсины синезеленых водорослей – это алкалоиды, по химическому и патологическому эффекту близкие к термостабильному яду гриба бледной поганки, обладающие протоплазматическим и гемолитическим действием. Так, водоросль *Mikrocystis* содержит сильный печеночный яд и фикоциан, вызывающий поражение кожи у скота.

Синезеленые водоросли опасны и для человека: вспышки эпидемий возникают в период цветения водоемов. Предполагается, что кишечные заболевания, возникающие в этот период, обусловлены действием токсического вещества, образовавшегося при разложении водорослей. Синезеленые водоросли могут вызывать аллергические заболевания и воспалительные процессы кожной ткани человека. Степень ядовитости водорослей зависит от концентрации их в воде. Так, анабена токсически действует на гидробионтов при следующих условиях:

- 1) концентрация водоросли достигает 1 млн. клеток в 1 мл воды;
- 2) pH – 7-8;
- 3) культура водоросли находится в логарифмической стадии роста, а количество живых клеток не менее 70%.

Неядовитые водоросли (подулярия и формидиум) ингибируют токсическое действие, оказываемое анабеной.

При массовом развитии синезеленых водорослей затрудняется работа водозаборных сооружений, ухудшается фильтрация воды.

Профилактика цветения заключается в предупреждении загрязнения водоема биологически разлагаемыми органическими веществами, биогенными

элементами. Практикуется также создание условий для развития высшей водной растительности, являющейся потребителем биогенных веществ.

Физические методы борьбы с цветением заключаются в искусственном замутнении воды глиной, аэрации, применении всасывающих устройств для удаления водорослей.

Для выделения водорослей в системах технического водоснабжения, в небольших водоемах и резервуарах возможно применение коагуляции сульфатом алюминия.

Химические методы борьбы с цветением заключаются в обработке водоемов пестицидами, сульфатом меди. Однако из-за токсичности этих соединений применение их ограничено.

Перспективным методом борьбы с цветением водоемов является биологический, основанный на использовании микроорганизмов – антагонистов водорослей. Жизнедеятельность микроорганизмов создает помехи в работе очистных сооружений, которые состоят в появлении привкусов и запахов у воды. Химический состав соединений, обуславливающий появление запаха, зависит от вида микроорганизмов. Так, актиномицеты в условиях затрудненной аэрации придают воде землистый запах. В зависимости от образующихся метаболитов запахи могут быть различными: ароматический, сероводородный, плесневый, гнилостный. В это время мясо рыбы также приобретает привкус.

При массовом развитии высшей водной растительности (макрофиты) происходит зарастание водоемов. В результате снижается пропускная способность сетей и каналов. В зарослях создаются условия для отложения личинок кровососущих насекомых. Вторичное загрязнение водоема продуктами распада макрофитов нарушает кислородный режим водоема, создает условия для массового развития микроорганизмов планктона, обрастаний.

Для борьбы с зарастанием рекомендуются различные методы: скашивание растений, затенение водоема путем посадки деревьев по берегам канала. Химические методы борьбы те же, что и при цветении. Биологические методы заключаются в разведении травоядных рыб (белый амур, толстолобик) и животных (ондатры, нутрии).

Работе сооружений технического и питьевого водопровода наносят большой вред микроорганизмы биообрастаний. Они вызывают засорение и обрастание водозаборных сооружений, внутренних стенок труб, вызывая их сужение, нарушают режим теплообмена. Микроорганизмы обрастаний часто вызывают или усиливают коррозию металлов. В морской воде, особенно теплой, обрастания развиваются быстрее. Продукты выделения микроорганизмов, например CO_2 , могут вызывать коррозию бетона. При транспортировке сточных вод по трубам создаются условия для развития анаэробов, например, бактерий, восстанавливающих сульфаты, что сопровождается образованием таких коррозионных агентов, как сероводород.

Некоторые виды плесневых грибов (*Penicillium*, *Aspergillus*) и актиномицетов вызывают коррозию натурального каучука.

На характер и интенсивность обрастаний влияют химический состав воды, температура и скорость потока, концентрация растворенного кислорода, содержание питательных веществ, свойства материала, контактирующего с водой.

В чистой воде обрастания чаще всего обусловлены железобактериями, серобактериями, водорослями, моллюсками.

Обрастают железобактериями гидротехнические сооружения и теплообменная аппаратура. Наличие в воде сероводорода создает условия для развития серобактерий, окисляющих его до серы или сульфатов, (рис. 6.2).

Максимальное развитие организмов обрастаний происходит при температуре, близкой к оптимальной, например, железобактерии развиваются при низкой температуре (7-10°C). Для многих микроорганизмов оптимальной является температура 15-20 и 35-37°C. Изменение температуры сопровождается сменой микроорганизмов обрастаний.

При снижении температуры в загрязненных водах преобладают нитчатые бактерии и грибы. Летом грибы в обрастаниях практически отсутствуют, развиваются нитчатые и зооглейные бактерии.

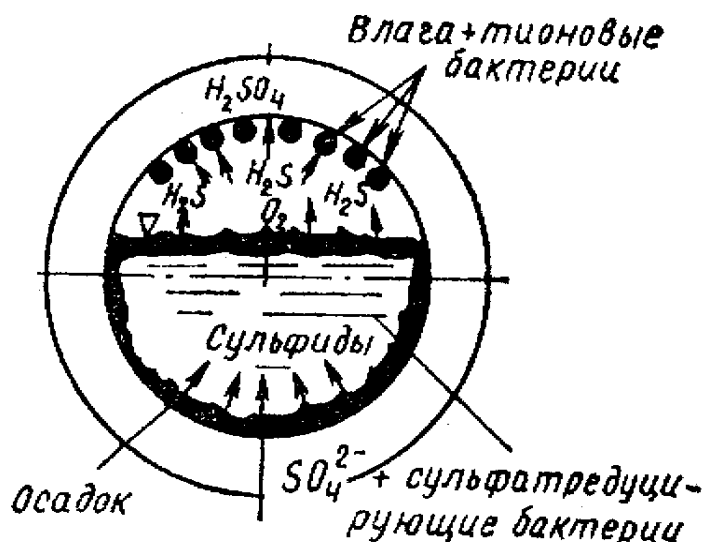


Рис. 6.2 – Схема бактериальных процессов в канализационном коллекторе

Если использовать для охлаждения промышленных установок воду, загрязненную органическими веществами, обрастания зооглейными бактериями происходит уже через 10 часов, нитчатыми – через 36 часов. Основные организмы обрастаний: зооглейные (*Zooglea ramigera*), нитчатые бактерии (*Sphaerotilus natans*, *Cladothrix*), нитчатые формы железобактерий – лептотрикс (*Leptothrix*), кренотрикс (*Crenotrix*), одноклеточные (гелионелла), грибы – мукор, лептомитус, фузариум, простейшие жгутиковые, инфузории; мшанки, черви (нематоды и олигохеты); моллюски (дрейссена, мидия, битиния, вивинарус и др.), ракообразные (балянус).

В водах, содержащих сероводород, развиваются серобактерии (*Beggiatoa alba*), которые представляют собой нити, плавающие в воде. При значительной

концентрации сероводорода образуются пучки этих нитей, вызывающие механическую закупорку труб.

Повышенное содержание сульфатов приводит к массовому развитию бактерий, восстанавливающих сульфаты до сероводорода и сульфидов, которые вызывают сильную коррозию металлических труб, (рис. 6.3).

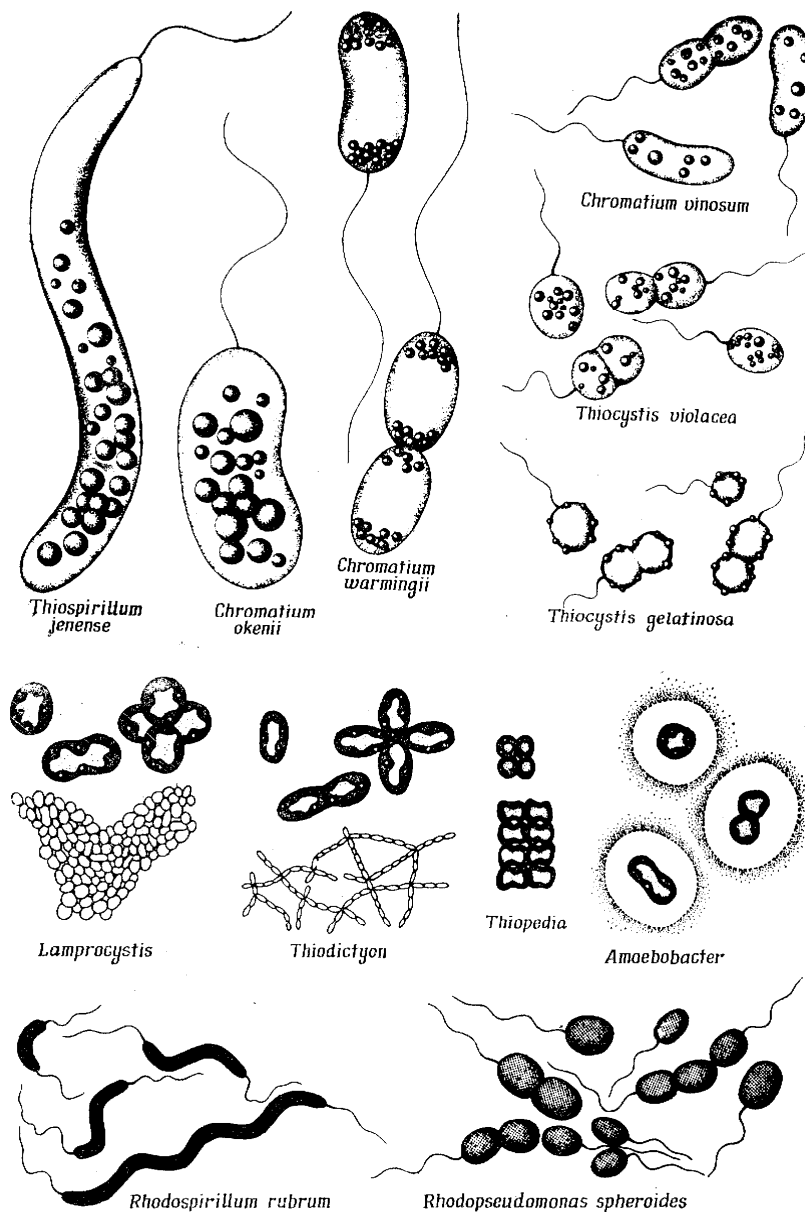
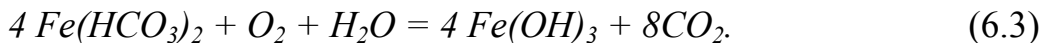


Рис. 6.3 – Некоторые представители серных (Thiorhodaceae) и несерных (Athiorhodaceae) пурпурных бактерий

Обрастания в водопроводной сети и теплообменной аппаратуре вызываются железобактериями. Они относятся к автотрофам и поэтому живут в воде с малым количеством органических веществ (окисляемость более 5 мг O_2 /л). Они поглощают из воды соединения Fe^{2+} и окисляют их до Fe^{3+} :



Среди железобактерий встречаются нитчатые формы, которые выделяют образующийся $Fe(OH)_3$ в слизистую оболочку, общую для всей нити; и

одноклеточные формы, у которых гидроксид железа откладывается в виде спиральных нитей вне клетки.

$\text{Fe}(\text{OH})_3$ снижает вкусовые качества воды. При концентрации железа в воде выше 0,8-1,0 мг/л при благоприятных условиях железобактерии могут вызвать полное зарастание внутренней поверхности. Железобактерии могут развиваться и при содержании железа 0,1-0,3 мг/л. Кроме того, они способствуют быстрому исчезновению остаточного хлора, снижая его обеззараживающее действие.

Наиболее эффективным способом борьбы с обрастаниями является изменение свойств воды (обезжелезивание, удаление сероводорода, снижение поступления органических веществ), предотвращение цветения и развития высшей водной растительности в водоеме – источнике водоснабжения.

Для удаления обрастаний в трубопроводах применяется промывка горячей водой (45°C) и различные типы химического воздействия: хлорирование, введение веществ, вызывающих отмирание микроорганизмов обрастаний.

Для борьбы с биологическими обрастаниями, вызываемыми зооглейными, нитчатыми бактериями, грибами, дрейссеной, применяется хлорирование воды. Для предотвращения развития водорослей воду обрабатывают сульфатом меди (CuSO_4) 0,2-0,4 мг/л Cu^{2+} (в градирнях, прудах-охладителях, брызгальных бассейнах).

Для очистки воды, поступающей на водопроводные очистные сооружения и содержащей естественные микроорганизмы (бактерии – сапрофиты и автотрофы, водоросли, простейшие), ее предварительно хлорируют для снижения численности микроорганизмов, а затем подвергают коагулированию. При этом микроорганизмы сорбируются растущими хлопьями и переходят в осадок.

Высокая эффективность очистки достигается в контактных осветлителях. Фильтрование воды через осветлитель совмещают с контактной коагуляцией взвешенных частиц. Вместе с грубодисперсными и коллоидными примесями осаждаются и микроорганизмы, при этом количество бактерий снижается на 50-95%.

Работа фильтров медленного действия основана на образовании биопленки. На зернах загрузки фильтра постепенно формируется активная пленка, состоящая из бактерий, водорослей и других микроорганизмов.

Последующее обеззараживание обеспечивает качество воды по бактериологическим показателям.

Микроорганизмы, образующие обрастания внутренних поверхностей водопроводов в системах транспортирования питьевой воды, не только ухудшают ее качество, но и вызывают разрушительные коррозионные процессы.

Разрушение труб с участием бактерий идет во много раз быстрее, чем при электрохимической коррозии. Иногда замена труб требуется через 10-14 месяцев эксплуатации.

При обследовании таких систем обнаружено, что под слоями наростов из железосодержащих микроорганизмов в зонах анаэробного развития

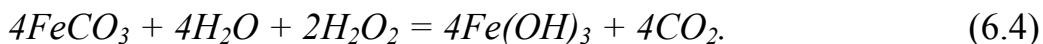
сульфатредуцирующие бактерии. Образующийся в результате сульфид железа в виде черного маслянистого на ощупь соединения можно наблюдать при вскрытии труб.

Кроме того, могут присутствовать сульфидообразователи, способные восстанавливать до сульфидов более восстановленные, чем SO_4^{2-} , соединения серы – SO_3 , S_2O_3 , S^0 биофильную серу. Например, *E coli* (кишечная палочка) способна к сероредукции с образованием сероводорода до 200 мг/л.

Иногда в процессах образования сульфидов участвуют нитроредуцирующие микроорганизмы. Они способны восстанавливать до S^{2-} ионы SO_3 , S_2O_3 , S^0 .

Следовательно, в воде водоводов необходимо определение ионов - SO_3 , S_2O_3 , так как динамика их содержания позволяет прогнозировать биоповреждения.

Для развития железобактерий достаточна концентрация Fe^{2+} 0,1 мг/л. Введение в воду окислителей (KMnO_4 , H_2O_2 и др.) непосредственно перед теплообменниками приводит к окислению Fe^{2+} и тем самым лишает железобактерии питания:



Введение H_2O_2 в концентрации 0,06-0,1 мг/л снижает концентрацию Fe^{2+} с 0,15 до 0,02 мг/л.

Необходимую дозу H_2O_2 для окисления Fe^{2+} можно определить по отношению: $D_{\text{H}_2\text{O}_2} = (0,5-1,5)C_{\text{Fe}^{2+}}$, или по графику на рисунке 6.4.

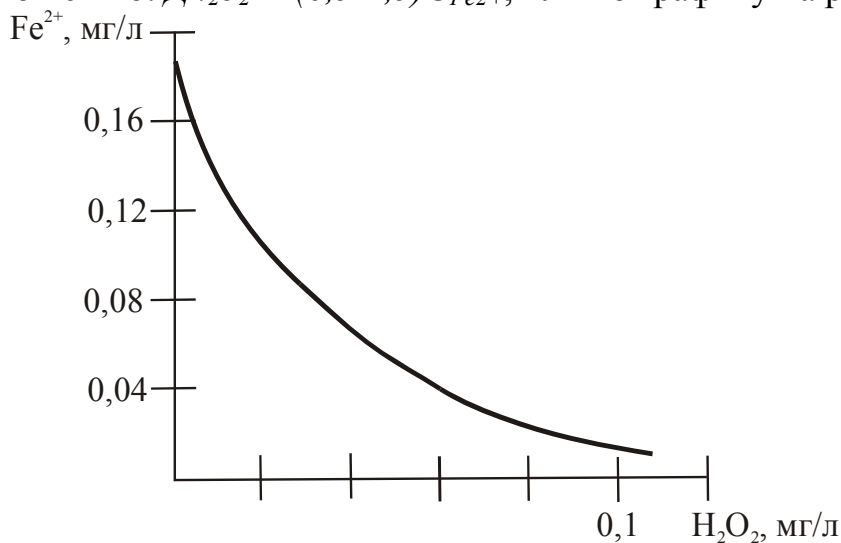


Рис. 6.4.–
График
определения
дозы H_2O_2

Таким образом, дозирование перекиси водорода в незначительных количествах (10%) предотвращает биообрастания и не влияет на коррозионную стойкость аппаратуры.

Контрольные вопросы

1. Каков состав микрофлоры воды открытых водоемов?
2. Что такое эвтрофикация водоемов?
3. Классификация водоемов по количеству микроорганизмов.
- 4.. Обрастания в водопроводной сети и теплообменной аппаратуре.

5. Какие зоны водоемов по степени микробного загрязнения различают санитарные микробиологи и по каким критериям?
6. Какие категории питьевой воды по степени микробного загрязнения различают санитарные микробиологи и по каким критериям?
7. Самоочищение водоемов.
8. Роль «бактериопиявки» в очистке воды в водоемах.

Лекция 7. Биологическое окисление

Типы дыхания

Аэробное дыхание. Цикл Кребса

Закономерности развития культуры микроорганизмов

1. Типы дыхания. Понятие «биохимическое окисление» включает в себя совокупность окислительно-восстановительных реакций с участием ферментов. В зависимости от направленности этих реакций выделяют и различные типы дыхания.

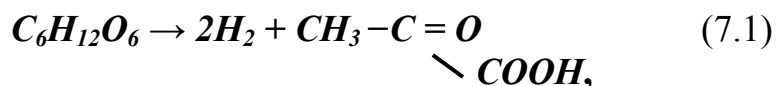
При биологическом окислении идут окислительно-восстановительные реакции, сопровождающиеся отнятием атомов водорода от одних соединений (доноров) и передачей его другим (акцепторам), или реакции, связанные с переносом электронов от донора к акцептору. Эти реакции осуществляются при участии ферментов, относящихся к классу оксиредуктаз.

Процессы дыхания, в которых акцептором водорода или электронов является молекулярный кислород, называются **аэробными**. Если акцептором являются другие соединения, то такой тип дыхания называется **анаэробным**.

Соответственно выделяют две группы микроорганизмов: **аэробы**, которым для дыхания необходим кислород (к ним относятся бактерии-нитрификаторы, железо- и серобактерии, водоросли, грибы, простейшие, коловратки), и **анаэробы**, развивающиеся в отсутствие кислорода.

При аэробном дыхании образуются конечные продукты распада – CO_2 и H_2O (**полное окисление**). Если окисление органических веществ проходит не до конца – это **неполное окисление**. При анаэробном дыхании разложение органического вещества останавливается на одной из промежуточных стадий.

Процесс, при котором ферментативная окислительно-восстановительная реакция проходит в анаэробных условиях при участии одного соединения, а акцептором водорода является один из продуктов реакции, называется **брожением**. Чаще всего брожение наблюдается при разложении углеводов. Брожение идет в две стадии: сначала происходит разрыв углеродной цепи и отнятие от молекулы окисляемого соединения атомов водорода, а затем – передача атомов водорода восстанавливаемому органическому соединению (акцептору), образовавшемуся в ходе разложения. Так, при разложении углеводов (глюкозы, фруктозы) в результате ферментативных процессов на первой стадии образуется пировиноградная кислота:



из которой на второй стадии образуются продукты, являющиеся акцепторами водорода (масляная кислота, этиловый спирт, ацетон и др.). Иногда она сама восстанавливается водородом в молочную кислоту (молочнокислое брожение):

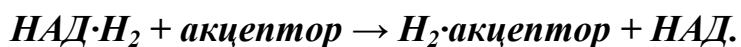


Атомы водорода не передаются непосредственно от окисляемого вещества к акцептору, а вначале восстанавливают коферменты анаэробных дегидрогеназ – НАД (никотинамидадениндинуклеотид) и НАДФ (никотинамидадениндинуклеотид фосфат):

1 стадия:



2 стадия:



2. Аэробное дыхание, Цикл Кребса. Аэробное дыхание является сложным процессом, включающим ферментативные окислительно-восстановительные реакции, заканчивающиеся передачей водорода кислороду, (рис. 7.1). Аэробное дыхание включает в себя *две фазы*:

1) цикл реакций, в которых субстрат окисляется до CO_2 , а атомы водорода передаются восстанавливаемым соединениям;

2) передача водорода кислороду.

Суммарно для пировиноградной кислоты:



Эти процессы сопряжены с синтезом АТФ.

При аэробном дыхании выделяется значительно больше энергии, чем при анаэробном. Так, если при полном окислении молекулы глюкозы образуется 38 молекул АТФ, то при ее брожении – всего 2. Поэтому анаэробам приходится перерабатывать значительно большее количество органического вещества, чем аэробам для получения одинакового количества энергии.

Две молекулы пировиноградной кислоты поступают на ферментативный кольцевой "конвейер", который называют циклом Кребса, по имени исследователя, открывшего его, или циклом трикарбоновых кислот, которые образуются в этом цикле как промежуточные продукты. Если ферменты гликолиза находятся в цитоплазме клеток, вне клеточных органелл, то все ферменты цикла трикарбоновых кислот локализованы в митохондриях, в их внутреннем межмембранном пространстве, которое заполнено матриксом - полужидким белковым веществом.

Попадая в митохондрию, пировиноградная кислота окисляется и превращается в богатое энергией производное уксусной кислоты - ацетилкофермент А. Если бы пировиноградная кислота превращалась просто в уксусную кислоту, возникло бы соединение, выраженное формулой CH_3-COOH . Однако в ходе ферментативной реакции к остатку уксусной кислоты присоединяется сложное органическое соединение - *кофермент А (HS-CoA)*, и

образуется богатая энергией молекула **ацетилкофермента А**, или, сокращенно, **ацетил-КоА**. Превращение пировиноградной кислоты в **ацетил-КоА** происходит при участии гигантского ферментативного комплекса, в состав которого входят 60 белковых молекул трех типов и присоединенные к ним переносчики электронов.

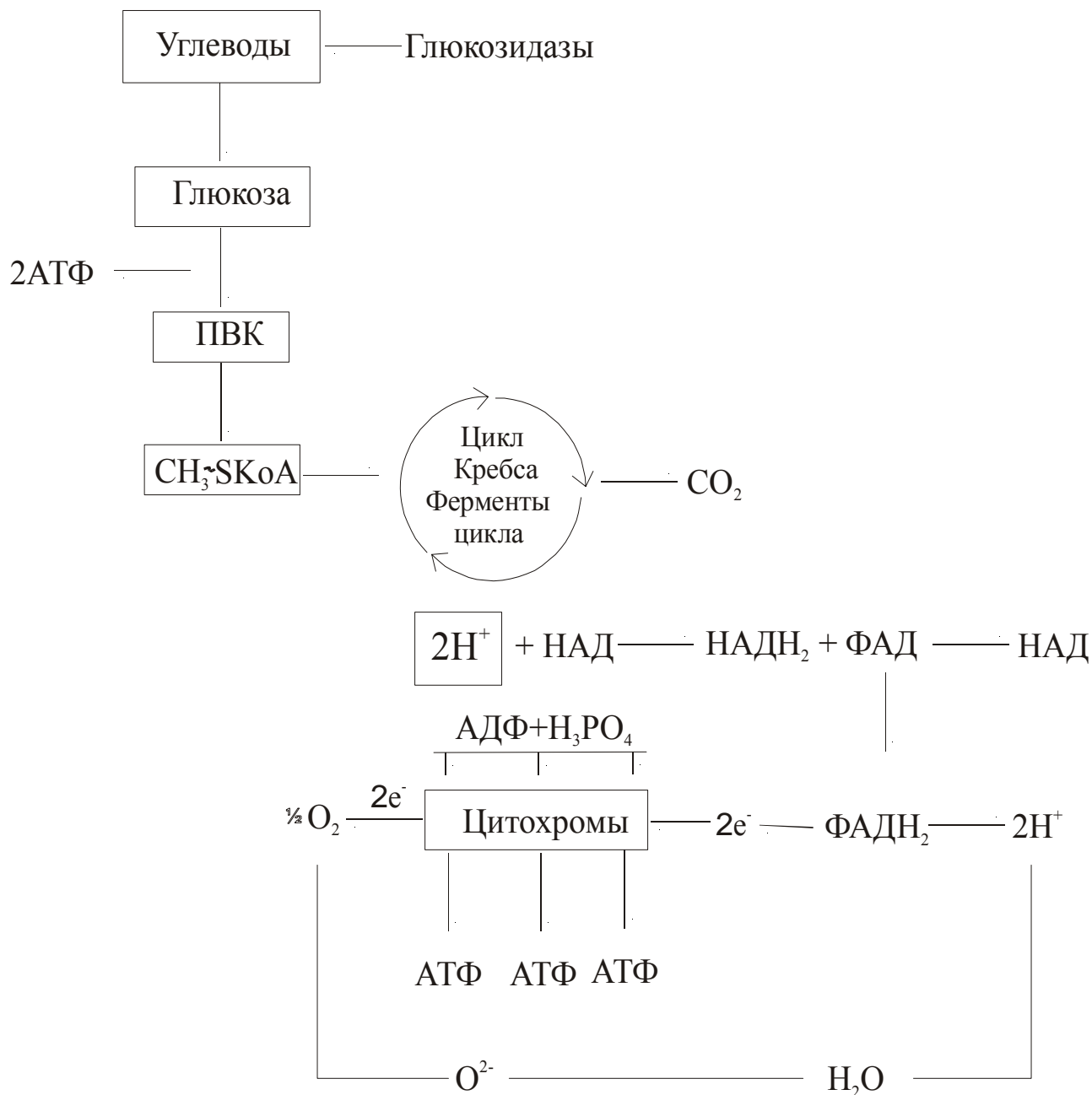


Рис. 7.1 – Схема окисления углеводов в процессе дыхания. Цикл Кребса

Не только глюкоза может служить источником энергии. Окисляются в клетках и жирные кислоты, которые образуются благодаря ферментативному расщеплению жиров липазой. В результате окисления жирных кислот в конечном итоге также образуется ацетил-КоА и восстанавливаются акцепторы электронов НАД в НАДН. При этом происходит восстановление акцепторов еще одного типа - ФАД в ФАДН (ФАД - это флавинадениндинуклеотид).

Энергия, запасенная в цикле трикарбоновых кислот, в молекулах НАДН и ФАДН₂, также используется далее для синтеза **АТФ**.

Существенно, что при окислении глюкозы, жирных кислот и некоторых аминокислот образуется одинаковый конечный продукт - **ацетил-КоА**. При этом происходит "обезличивание" первичного источника энергии, поскольку **ацетил-КоА** не имеет никаких следов своего происхождения. Таким способом готовится "топливо" для основной биологической "топки" в митохондриях. Следовательно, в цикл трикарбоновых кислот поступают молекулы **ацетил-КоА** из разных энергетических источников.

На следующем этапе цикла трикарбоновых кислот **ацетил-КоА** соединяется с молекулой щавелевоуксусной кислоты, и при этом образуется трикарбоновая лимонная кислота (в ее остове уже не два атома углерода, как в **ацетил-КоА**, а три атома углерода и, соответственно, при них три карбоксильные группы - COOH).

Лимонная кислота окисляется в ходе последующих четырех ферментных реакций. Лимонная кислота теряет два углеродных атома, за счет которых образуются две молекулы CO₂. В сумме, в результате семи последовательных ферментативных реакций, лимонная кислота превращается в щавелевоуксусную кислоту. Образовавшаяся молекула щавелевоуксусной кислоты соединяется с новой молекулой **ацетил-КоА**, поступающей на этот циклический конвейер ферментов. При этом вновь образуется молекула лимонной кислоты, которая ступенчато окисляется до щавелевоуксусной кислоты, и цикл вновь повторяется. В составе лимонной кислоты как бы сгорает присоединившийся остаток **ацетил-КоА**. При этом образуется углекислый газ, атомы водорода и электроны переносятся на акцепторы - НАД⁺ и ФАД⁺. Таким образом, энергия химических связей органических веществ, углеводов, жиров, белков накапливается в молекулах НАДН, ФАДН₂ и АТФ.

4. Закономерности развития культуры микроорганизмов одного вида описываются кривой активного роста, приведенной на рисунке 7.2.

При введении микроорганизмов в среду, содержащую питательные вещества, вначале происходит задержка роста (лаг-фаза). Это связано с тем, что микроорганизмам необходимо определенное время для адаптации к изменившимся условиям среды. Наличие лаг-фазы связано с изменением питания, внешних условий (например, температуры, pH), наличием ингибиторов ферментативных процессов и пр. Знание причин, обуславливающих наличие фазы задержки роста, позволяет уменьшить время, необходимое для адаптации микроорганизма к данной среде. Длительность ее может быть использована для характеристики влияния отдельных факторов внешней среды на жизнедеятельность микроорганизмов. В этой фазе прирост биомассы идет за счет увеличения клеток микроорганизмов.

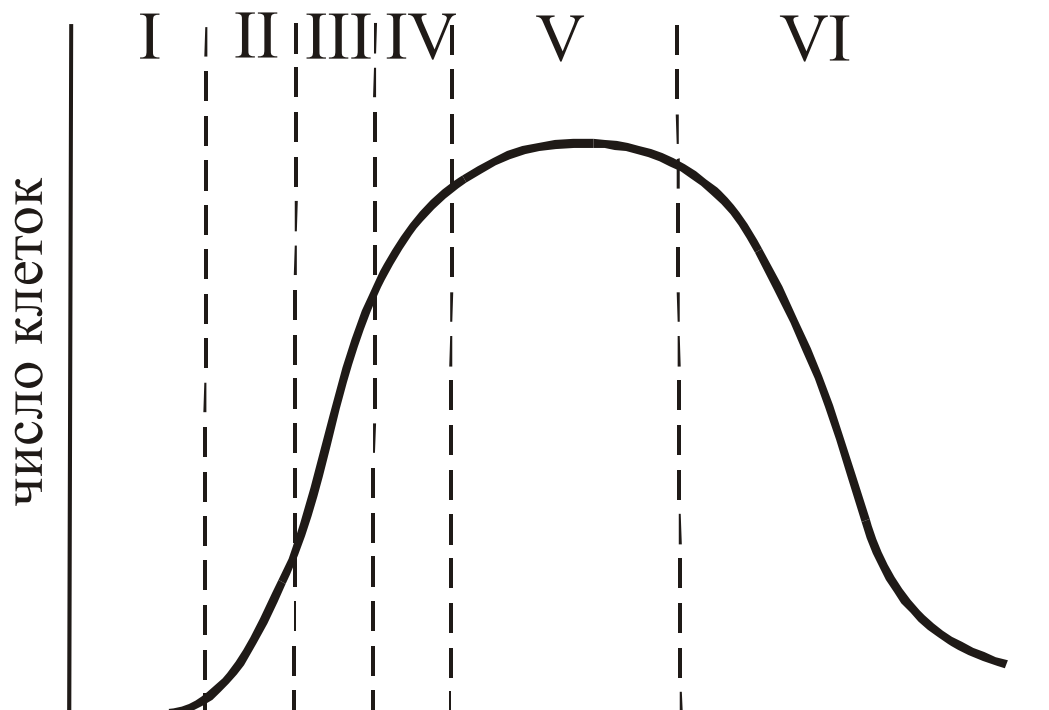


Рис. 7.2 – Кривая активного роста культуры микроорганизмов

I – лаг-фаза; II – фаза ускоренного роста; III – фаза логарифмического роста; IV – фаза замедленного роста; V – стационарная фаза; VI – фаза отмирания.

После адаптации начинается ускоренный рост культуры за счет возрастания скорости деления клеток, достигающий через определенное время максимума. При этом скорость роста пропорциональна количеству биомассы в степени, которая является функцией времени. В это время условия являются наиболее оптимальными для развития микроорганизмов, заключающиеся в достаточном количестве питательных веществ при небольшом содержании продуктов обмена в окружающей среде.

В логарифмической фазе скорость роста не изменяется – это период непрерывного роста культуры. По мере расходования питательных веществ и накопления метаболитов скорость размножения микроорганизмов постепенно снижается, и фаза замедленного роста (IV) переходит в стационарную (V), в которой количество вновь образующихся клеток примерно соответствует количеству отмирающих.

Дефицит питательных веществ и повышающаяся концентрация продуктов обмена в окружающей среде способствуют отмиранию клеток микроорганизмов (VI – фаза отмирания). Однако рост культуры нельзя рассматривать как механический прирост или уменьшение клеток. Фазы роста культуры сопровождаются физиологическими изменениями в клетках микроорганизмов. Молодые клетки, имеющие высокую интенсивность

метаболизма, постепенно стареют, что способствует снижению интенсивности обменных процессов.

Контрольные вопросы

1. Биологическое окисление. Типы дыхания.
2. Химический состав клеток микроорганизмов.
3. Энергетический заряд бактериальной клетки.
4. Закономерности роста культуры микроорганизмов.
5. Чем характеризуется начальная стадия роста микроорганизмов?
6. Какие признаки имеет фаза отмирания?

Лекция 8. Биологическое окисление различных классов органических веществ в аэробных условиях

Биологическая очистка

Окисление углеводов и жиров в аэробных условиях

Процессы окисления азотсодержащих органических веществ.

Разложение серосодержащих соединений Общая направленность процессов

1. Биологическая очистка. Полная биологическая очистка сточных вод является эффективным способом предотвращения загрязнения водоемов биохимически разлагаемыми органическими соединениями. Сущность ее заключается в разложении органических веществ, содержащихся в сточных водах, в результате жизнедеятельности микроорганизмов.

На очистных сооружениях городской канализации биологической очистке подвергаются бытовые и производственные сточные воды. Последние по мере необходимости, например, при наличии токсичных соединений, подвергаются предварительной обработке.

Эффективность работы станций биологической очистки определяется подбором оптимальных условий для жизнедеятельности микроорганизмов биоценозов очистных сооружений.

Способность микроорганизмов потреблять соединения разнообразного химического состава и высокие адаптационные возможности к изменяющимся условиям внешней среды позволяют очищать сточные воды от органических загрязнений, содержащихся в бытовых сточных водах, а также от биохимически разлагаемых веществ, поступающих с производственными сточными водами.

Разложение органических веществ в процессе биологической очистки может происходить в **аэробных и анаэробных условиях**. Аэробные процессы обычно используют для окисления загрязнений, остающихся в сточной воде после отстаивания, а именно: растворенных, коллоидных и тонкодиспергированных органических примесей, не выделившихся при

отстаивании. Окисление осуществляется аэробными микроорганизмами в естественных (биологические пруды, поля орошения и поля фильтрации) условиях и на искусственных очистных сооружениях (аэротенки, био- и аэрофильтры). В аэротенках, окислительных прудах воспроизводятся процессы самоочищения, протекающие в водоемах. В биофильтрах, аэрофильтрах, на полях орошения и полях фильтрации воспроизводятся почвенные процессы самоочищения. Эффективность удаления органических веществ определяется технологическими особенностями очистных сооружений и выбором оптимальных условий для жизнедеятельности микроорганизмов. Оптимальная нагрузка по органическим веществам, температура, pH, количество растворенного кислорода, отсутствие токсичных примесей определяют эти условия.

Анаэробные биохимические процессы используют для разложения осадка сточных вод и иногда в качестве предварительной ступени очистки концентрированных производственных сточных вод. Разложение органических веществ идет с образованием метана, диоксида углерода, азота, сероводорода, водорода и продуктов неполного распада органических соединений. Этот способ обработки осадка сточных вод называется **сбраживанием**, которое осуществляется в септиках, двухъярусных отстойниках и метантенках.

2. Окисление углеводов и жиров в аэробных условиях

Аэробные процессы разложения безазотистых органических веществ чрезвычайно разнообразны. В присутствии кислорода биохимическому распаду подвергаются углеводы, жиры органические кислоты, углеводороды и другие соединения. Органические вещества имеют предварительный и основной пути окисления. Предварительное разрушение органических соединений происходит в результате гидролиза или окисления их до таких веществ, которые затем вступают на основной путь биохимического окисления.

Окисление целлюлозы и пектиновых веществ. Разложение целлюлозы начинается с ферментативного гидролиза вначале до дисахарида целлобиозы, а затем до глюкозы:



Образующаяся при окислении глюкозы в результате ферментативных реакций пировиноградная кислота вступает в цикл трикарбоновых кислот (Кребса), в результате чего выделяется диоксид углерода, а освобождающиеся атомы водорода в конце дыхательной цепи связываются кислородом в воду. Суммарно схему этих сложных ферментативных процессов с учетом только исходного вещества и конечных продуктов можно записать следующим образом:



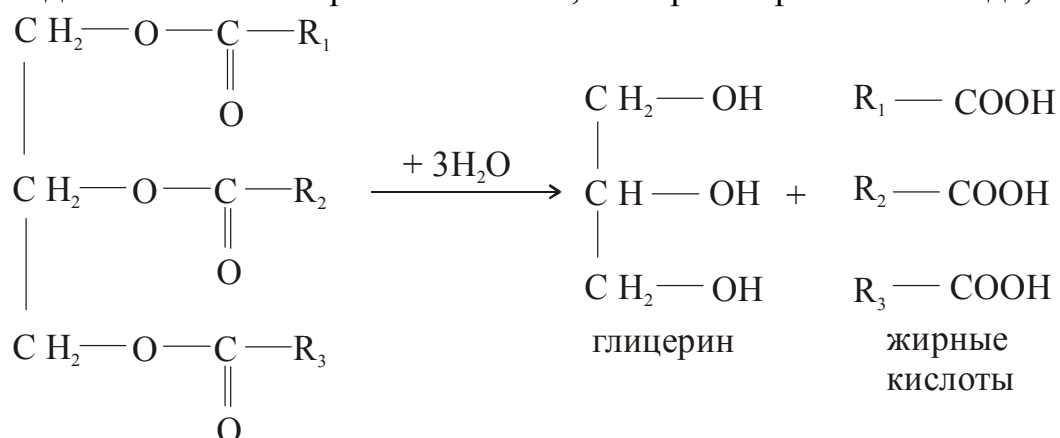
Разложение целлюлозы в аэробных условиях осуществляется рядом бактерий, актиномицетами и грибами. Чаще всего это бактерии из рода

Cytophaga, а также бактерии рода Cellvibrio. Из актиномицетов способностью к окислению целлюлозы обладают роды Micromonospora, Streptomyces, из грибов – Fusarium, Aspergillus и некоторые другие. Грибы медленно разлагают целлюлозу, при этом часто наблюдается неполное окисление с образованием лимонной, щавелевой, уксусной, муравьиной и других кислот.

Пектиновые вещества, входящие в состав оболочек растительных клеток и заполняющие межклеточное пространство, по своей химической природе являются сложными полимерными соединениями. В аэробных условиях они разрушаются некоторыми плесневыми грибами. Окисление пектиновых веществ тоже идет в две стадии. Сначала в результате ферментативного гидролиза образуются менее сложные водорастворимые соединения, которые затем окисляются до диоксида углерода и воды.

Окисление жиров. Разложение жиров начинается с их гидролиза под влиянием фермента – липазы, содержащейся во многих микроорганизмах – пигментных бактериях, актиномицетах, плесневых грибах родов Aspergillus и Penicillium:

Трехатомный спирт – глицерин быстро окисляется до диоксида углерода и воды. Высшие жирные кислоты, не растворимые в воде, окисляются



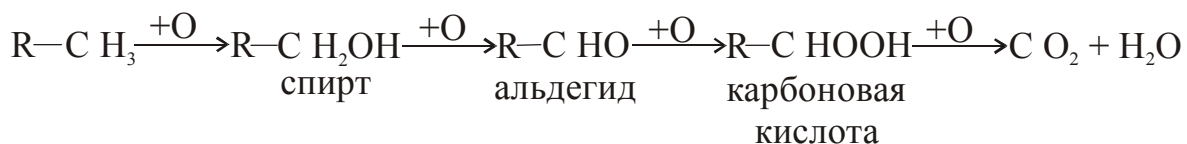
значительно труднее и медленнее. Под воздействием микроорганизмов в аэробных условиях они окисляются до диоксида углерода и воды:



Стеариновая кислота

Окисление жирных кислот идет через стадии образования других кислот, которые вступают в цикл Кребса. Органические кислоты могут использоваться микроорганизмами в качестве источника энергии и как материал для биосинтеза. Исключение составляет муравьиная кислота, которая участвует только в катаболическом процессе.

Окисление предельных углеводородов (алканов). Некоторые микроорганизмы в аэробных условиях разлагают углеводороды с различной длиной углеродной цепи, от метана до сложных углеводородов нефти. Группа метаноокисляющих микроорганизмов Methanomonas под действием ферментов трансформирует метан в диоксид углерода и воду. Углеводороды с большим числом углеродных атомов окисляются другими группами бактерий по различным механизмам. Основной путь можно представить схемой:



Последняя стадия заключается в преобразовании кислот в цикле Кребса до простых продуктов, при полном окислении до диоксида углерода и воды. Наиболее энергично окисляют алканы бактерии *Pseudomonas*, микобактерии, актиномицеты. Разложение углеводов может происходить и в анаэробных условиях в присутствии веществ, способных отдавать кислород.

Окисление ароматических углеводов и их производных. Многие соединения ароматического ряда, например, фенол и его гомологи, являются токсичными по отношению к микроорганизмам. Но существуют специфические микроорганизмы из групп микобактерий, бацилл, способные разлагать эти соединения при определенной концентрации их в окружающей среде. На деятельности этих микроорганизмов основан биохимический метод обесфеноливания воды. Наиболее полно и быстро окисление этих соединений происходит в воде при достаточном количестве кислорода. В этих условиях соединения ароматического ряда разлагаются до диоксида углерода и воды без образования промежуточных продуктов.

Поскольку все биохимические процессы проходят при участии ферментов, то при поступлении органических веществ иного химического состава и строения жизнедеятельность микроорганизмов из-за токсичного действия может полностью нарушаться или в течение некоторого времени происходит приспособление (адаптация) микроорганизмов к изменившимся условиям. Следствием этого является выработка новых ферментов, под действием которых начинает разлагаться новый вид органического загрязнения. В зависимости от химической природы загрязнения, его концентрации, количества микроорганизмов, скорости их размножения и других внешних факторов период адаптации может длиться от нескольких дней до нескольких месяцев.

Постоянными компонентами городских сточных вод **являются поверхностно-активные вещества**. По отношению к биохимическому окислению они делятся на «мягкие» и «жесткие». Жесткие ПАВ практически не подвергаются биохимическому окислению. Способность ПАВ к биохимическому окислению определяется их химической структурой. Легко подвергаются биохимическому окислению анионные ПАВ – алкилсульфаты с нормальной углеводородной цепью. ПАВ, имеющие разветвленную углеводородную цепь, содержащую бензольное ядро, и неионогенные ПАВ наиболее устойчивы к биохимическому окислению. Способность к биохимическому окислению ПАВ может быть повышена при адаптации микроорганизмов, которую следует начинать с введения малых количеств ПАВ (порядка 5 мг/л).

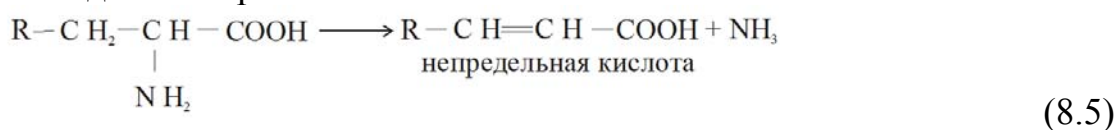
3. Процессы окисления азотсодержащих органических веществ. Азотсодержащие органические соединения широко распространены в природе, так как азот входит в состав белков. Белки непосредственно не могут

усваиваться микроорганизмами. Однако некоторые группы микроорганизмов обладают способностью выделять во внешнюю среду протеолитические экзоферменты, которые гидролизуют белки с образованием соединений с меньшей молекулярной массой, способных проникать через оболочку клетки.

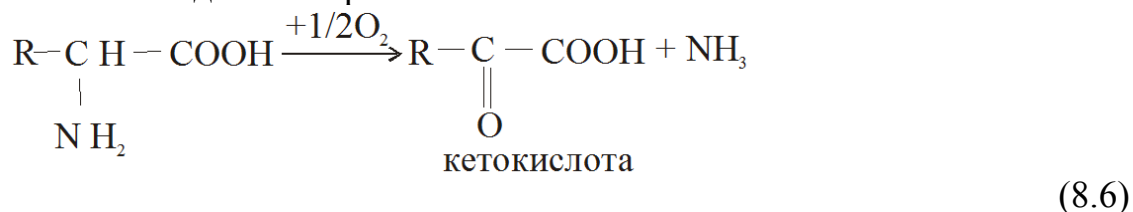


Образовавшиеся аминокислоты под влиянием других микроорганизмов, содержащих фермент трансаминазу, подвергаются дезаминированию, т.е. разложению с выделением аммиака. Оно осуществляется различными путями.

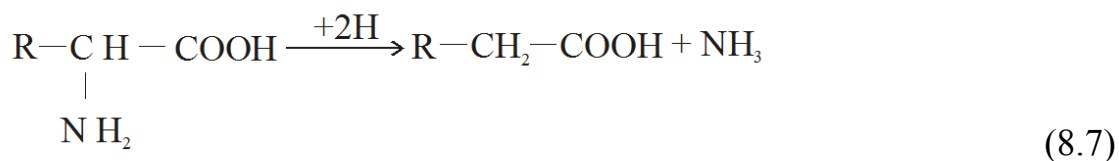
Прямое дезаминирование:



Окислительное дезаминирование:



Восстановительное дезаминирование:

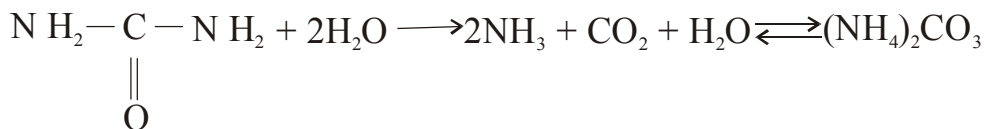


Процесс разложения продуктов гидролиза белковых соединений микроорганизмами с образованием аммиака называется аммонификацией, а микроорганизмы – аммонификаторами.

Окисление белковых соединений происходит до конца с образованием аммиака, диоксида углерода, воды. Если в белках содержится сера, то в качестве промежуточных соединений образуются еще меркаптаны (тиоспирты), а при полном распаде образуется сероводород. Наиболее распространены аэробные возбудители разложения белков *Bacterium fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*. Кроме того, разложение белковых соединений может вызываться актиномицетами и многими грибами. Нуклеопротеиды, содержащие нуклеиновые кислоты, связанные с аминокислотными остатками, разлагаются с образованием углеводов – рибозы и дезоксирибозы, азотистых органических оснований и фосфорной кислоты.

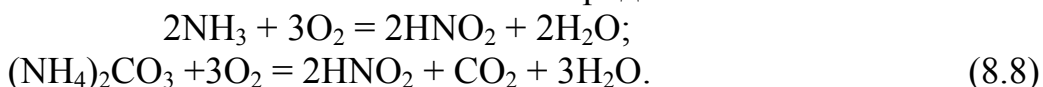
Разложение карбамида. Карбамид (мочевина) $\text{NH}_2 - \text{CO} - \text{NH}_2$ представляет собой продукт белкового обмена у животных и человека. Под действием фермента уреазы карбамид гидролизуются уробактериями с образованием аммиака и диоксида углерода:

Разложение карбамида осуществляется в основном аэробными микроорганизмами. Образующийся карбонат аммония подвергается гидролизу с образованием гидрокарбоната аммония и гидроксида аммония. Наличие этих



соединений обуславливает буферные свойства сточной жидкости.

Нитрификация. Аммиак, образовавшийся в результате разложения азотсодержащих органических соединений, используется в качестве энергетического материала нитрозобактериями. Энергия, необходимая для жизнедеятельности нитрозобактерий, получается в результате ферментативных реакций окисления аммиака и солей аммония кислородом:



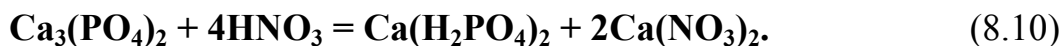
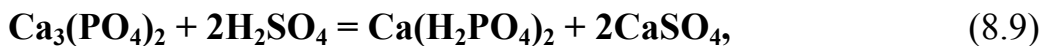
Этот процесс осуществляется только в аэробных условиях. Энергия, выделяющаяся при этом, расходуется на синтез органического вещества клетки, так как нитрозобактерии – автотрофные организмы. Окисление аммонийного азота начинается только после полного разложения биологически разлагаемых органических примесей. Наиболее энергичными окислителями аммиака являются бактерии рода *Nitrosomonas*, представляющие собой подвижные клетки овальной формы с длинным жгутиком. Азотистая кислота в присутствии достаточного количества кислорода окисляется другой группой микроорганизмов – нитробактериями до азотной кислоты: $2\text{HNO}_2 + \text{O}_2 = 2\text{HNO}_3$. Образующиеся кислоты нейтрализуются гидрокарбонатами, находящимися в воде водоемов. Поэтому на первой стадии нитрификации образуются соли азотистой кислоты нитриты, а на второй – соли азотной кислоты нитраты. Этот процесс протекает при энергичной реакции. Возбудителями процесса служат бактерии рода *Nitrobacter*, представляющие собой мелкие палочки длиной около 1 мкм и диаметром 0,5 мкм, образующие зооглеи.

Процессы окисления аммиака и азотистой кислоты называются нитрификацией, а бактерии – нитрифицирующими или нитрификаторами. Для нормального протекания процесса нитрификации необходимо определенное значение pH. Первая стадия имеет оптимум pH 8,5, а вторая – 8,3-9,3. Образующиеся при нитрификации азотистая и азотная кислоты могут вызывать разрушение подводных бетонных сооружений.

4. Разложение серосодержащих соединений. Сера входит в состав некоторых белков. При гидролитическом распаде белков она восстанавливается до сероводорода, который представляет собой токсичное соединение для многих групп микроорганизмов. Но в водоемах и почве встречаются серобактерии, окисляющие восстановленные соединения серы до свободной серы и сульфатов. Эти бактерии живут при высоких концентрациях сероводорода в окружающей среде. Сероводород для них служит источником энергии для синтеза органического вещества.

Окисление сероводорода осуществляется в два этапа. Вначале при достаточном количестве сероводорода образуется свободная сера, которая откладывается в клетках серобактерий в виде включений: $2\text{H}_2\text{S} + \text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{S}$. Затем при снижении концентрации сероводорода в окружающей среде идет окисление серы до сульфатов: $2\text{S} + 3\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} = 2\text{H}_2\text{SO}_4$. К серобактериям, окисляющим сероводород через образование свободной серы, относятся бесцветные и пурпурные серобактерии. Из бесцветных серобактерий чаще всего встречается *Beggiatoa alba*. Это бактерии, образующие длинные, плавающие нити диаметром от 8 до 50 мкм и вызывающие обрастания. Пурпурные серобактерии (Thiorodaceae) содержат пигмент бактериопурпурин. Они способны получать энергию путем фотосинтеза. Группа тионовых бактерий окисляет сероводород непосредственно до сульфатов. Из них наиболее часто встречается небольшая подвижная палочка *Thiobacillus thioparus*.

Превращение соединений фосфора. Фосфор входит в состав таких жизненно важных соединений, как нуклеиновые кислоты, липоиды, АТФ. При разложении этих соединений освобождается фосфорная кислота, которая образует с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} труднорастворимые фосфаты. Перевод их в растворимые соединения (гидро-, дигидрофосфаты) называется мобилизацией фосфатов. Он осуществляется под действием кислот (азотной, серной), образующихся в результате жизнедеятельности некоторых серобактерий и нитрификаторов:

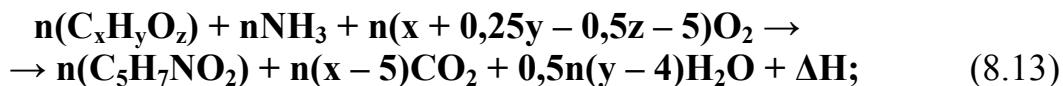


Общая направленность аэробных процессов. Рассмотренные пути окисления основных групп органических соединений являются несколько условными, так как при наличии нескольких групп окисляющихся органических веществ разложение каждой из них будет зависеть от химической природы и концентрации других компонентов. Общую направленность процессов аэробного окисления, осуществляемых бактериями-гетеротрофами, можно условно описать следующими схемами:

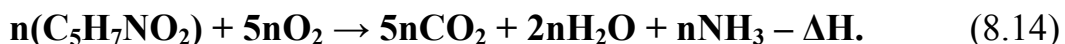
1) окисление органических веществ в процессе энергетического обмена:



2) синтез биомассы клеток микроорганизмов в процессе конструктивного обмена:



3) окисление органических веществ, входящих в состав клеток микроорганизмов:



Здесь условно приняты обозначения: $C_xH_yO_z$ – безазотистое органическое вещество; $C_xH_yO_zN$ – азотсодержащее соединение; $C_5H_7NO_2$ – формула, выведенная на основе среднестатистического соотношения между элементами в синтезируемом клеткой веществе. Количество кислорода, необходимое для окисления органических примесей в ферментативных реакциях конструктивного и энергетического обмена (см. схемы 8.1 и 8.2), характеризуют полное БПК. Образующийся аммиак окисляется нитрифицирующими бактериями до нитритов и нитратов.

После окисления органических примесей сточных вод происходит разложение содержимого клеток микроорганизмов (см. схему 8.3). Коэффициенты (x, y, z) и среднестатистическое соотношение между основными элементами могут отличаться для разных групп микроорганизмов. Поэтому эта схема весьма условная, но с ее помощью можно проследить общий ход процессов преобразования органических веществ при аэробных способах очистки сточных вод. Первый и третий процессы являются экзотермическими, а второй (биосинтез) – эндотермическим.

Контрольные вопросы

1. Сущность полной биологической очистки
2. Механизм аэробного окисления жиров и клетчатки
3. Механизм окисления азотсодержащих органических веществ.
4. Механизм окисления карбамида. .
5. Процесс нитрификации – бактерии и этапы процесса.
6. Этапы разложения серосодержащих соединений
7. Превращение соединений фосфора.

Лекция 9. Биохимическая очистка сточных вод в естественных и искусственных условиях

Почвенные методы очистки сточных вод

Очистка в аэротенках

Биоценоз активного ила

Биохимическая очистка в биофильтре. Микроорганизмы биопленки

1. Почвенные методы очистки сточных вод. Методы почвенной очистки сточных вод основаны на способности самоочищения почвы; осуществляется такая очистка на полях орошения или на полях фильтрации.

Полями орошения называются специально подготовленные и спланированные земельные участки, предназначенные для очистки сточных вод и для выращивания на них сельскохозяйственных культур.

Если земельные участки предназначены только для очистки сточных вод, они носят название полей фильтрации.

В России первые поля орошения были устроены в Одессе (1887 г.), затем в Киеве (1894 г.) и, наконец, в Москве (1898 г.). Однако в последующем при увеличении объема сточных вод эти **поля орошения** были переведены на режим полей фильтрации, а в дальнейшем для большей части стоков заменены сооружениями искусственной биологической очистки.

Очистка сточных вод в обоих случаях происходит в результате совокупности сложных физико-химических и биологических процессов.

Сущность этих методов заключается в фильтрации сточных вод, содержащих органические вещества, через слой почвы. Очистка воды при этом производится под воздействием физических, химических и биологических факторов.

В процессе фильтрации сточной жидкости в течение 1-2 недель на поверхности почвы образуется активный фильтрующий слой. Он возникает в результате задержки взвешенных и коллоидных веществ, содержащихся в сточной жидкости, и заселения этого слоя огромным количеством аэробных микроорганизмов. Толщина активной пленки составляет 20- 40 см. В этом слое происходит накопление взвешенных, коллоидных и растворенных веществ, а также микроорганизмов и яиц гельминтов. Благодаря сильно развитой поверхности почвенных частиц осуществляется адсорбция газов, содержащихся в сточной жидкости, в том числе необходимого для жизнедеятельности микроорганизмов кислорода.

Очистка воды в определенной степени может проводиться в слое почвы толщиной до 1,5-2 м. В самом верхнем слое почвы задерживаются взвешенные вещества, яйца гельминтов, частично бактерии. В более глубоких слоях происходит адсорбция коллоидных примесей и бактерий почвенными частицами, содержащими огромное количество микроорганизмов, которые участвуют в разложении органических веществ и ликвидации бактериального загрязнения. Основную массу населения активной биологической пленки составляют бактерии-минерализаторы, осуществляющие процесс биохимического окисления органических веществ.

Микроорганизмы сточных вод составляют около 1% от общего числа почвенных микроорганизмов. Под влиянием неблагоприятных условий и антагонистического воздействия микроорганизмов почвы происходит почти полное отмирание патогенных форм. Задержка патогенных микроорганизмов происходит в результате поглощения их частицами почвы, а отмирание может вызываться антибиотическими веществами, выделяемыми почвенными микроорганизмами. Кроме того, патогенные микроорганизмы используются простейшими, коловратками и другими организмами для питания.

Эффективность задержки бактерий, поступающих со сточными водами, зависит от способности их сорбироваться частицами почвы. Количество адсорбированных бактерий зависит от их видовых особенностей и колеблется в значительных пределах (от 45 до 95%). Степень адсорбции для кишечной палочки составляет около 94% от общего количества, поступившего со стоком.

Присутствие ПАВ в сточных водах способствует уменьшению числа задерживаемых почвой бактерий. Так, при концентрации анионного ПАВ (сульфонола) 10 мг/л расстояние, на которое переносится водой *Bacteria coli*, увеличивается в 2 раза. Энтерококки и кишечные палочки при коли-индексе 10^5 и 10^4 соответственно в 1 л воды распространяются на расстоянии от 30 до 200 см. Отмирание микроорганизмов, поступающих со сточными водами, может обуславливаться в определенной степени и действием таких факторов, как солнечная радиация, неблагоприятные условия внешней среды. Прохождение сточной жидкости через почвенный фильтрующий слой сопровождается снижением общего числа микроорганизмов на 90-99,8%.

В активном слое происходит энергичное разложение азотсодержащих соединений, в нем развивается количество бактерий – нитрификаторов, достигающее 1 млн. клеток на 1 г почвы. Содержание азота в форме нитратов в очищенной воде может составлять 20-25 мг/л. На глубине более 40 см окисление органических соединений осуществляется за счет восстановления нитратов.

В процессе разложения органических веществ активно участвуют и другие растительные и животные организмы биоценоза. Почвенные водоросли, особенно зеленые и сине-зеленые, являются дополнительным источником кислорода. Грибы используют в качестве питательного материала органические соединения. Роль простейших и коловраток сводится к уничтожению бактерий, переработке иловых частиц. Черви, личинки насекомых, населяющие верхний слой почвы, разрыхляют его и способствуют лучшей аэрации. На полях орошения число личинок комара *Chironomus pulmosus* может достигать 90 тыс. на 1 м², количество поглощаемого ими органического вещества достигает примерно 250 г/м³, из которых около 150 г минерализуется и около 100 г используется для построения тела личинок.

Степень очистки при почвенных методах определяется количеством и качеством поступающих сточных вод и свойствами почвы. Определяющими показателями почв служат их проницаемость и адсорбционная способность. Наиболее благоприятными в этом отношении являются супесчаные, черноземные и суглинистые почвы.

При избыточном количестве поступающей сточной жидкости наблюдается возникновение анаэробных условий, что приводит к замене аэробных микроорганизмов анаэробными и накоплению промежуточных продуктов распада органических веществ. Нарушение биохимического окисления может происходить и при высокой концентрации неорганических и биологически неокисляемых органических соединений.

Очищенная фильтрацией через слой почвы сточная вода не содержит яиц гельминтов. Основная масса яиц гельминтов задерживается в 10-сантиметровом слое почвы, отдельные могут проникать на глубину 30 см. Но сама почва, задерживая в значительном количестве яйца гельминтов, может быть источником заражения выращиваемых на ней овощей, а также обслуживающего персонала. Яйца гельминтов на глубине 2 см могут сохраняться в течение полутора лет. Подпочвенное орошение сточными водами

имеет преимущество перед обычными фильтрационными методами в санитарном отношении. При этом не загрязняется поверхность почвы и произрастающие растения, отсутствуют неприятные запахи вследствие поглощения газов почвой. Очищенные сточные воды характеризуются следующими показателями: рН 6,5-8,5; взвешенные вещества 14-70 мг/л; ХПК 20-150 мг/л; БПК₅ 10-40 мг/л; аммонийный азот 6-70 мг/л; растворенный кислород 4-8 мг/л; сухой остаток 400-700 мг/л. из приведенных данных следует, что при биологической очистке не всегда удается получить воду, которая соответствовала бы необходимым требованиям. Иногда бывает необходима доочистка сточных вод, прошедших биологическую очистку, физико-химическими и химическими методами.

2. Очистка в аэротенках. Действующим началом при очистке сточных вод в **аэротенках** является **активный ил**, представляющий собой частицы органических веществ, населенные различными группами микроорганизмов – аэробов и факультативных анаэробов. Аэрация воды способствует созданию оптимальных условий для их жизнедеятельности и интенсификации процессов окисления органических веществ. Кроме того, перемешивание воздухом способствует поддержанию активного ила во взвешенном состоянии.

С физико-химических позиций активный ил представляет собой структурированную коллоидную систему, обладающую высокой сорбционной способностью. Активный ил является средой обитания многих микроорганизмов воды и почвы, образующих сложный биоценоз. Он получается при длительной аэрации биологической пленки биофильтров или бытовых сточных вод. Состав активного ила определяется природой органических примесей и поэтому может изменяться качественно и количественно. Так, при окислении фенолсодержащих сточных вод в биоценозе активного ила преобладают псевдомонады (*Pseudomonas*) при общем количестве видов микроорганизмов 48 и плотности бактериального населения 550 млн. клеток в 1 мл. При окислении сточных вод, содержащих анионные ПАВ (алкилсульфонаты), развиваются только 10 видов со значительным преобладанием микобактерий при общем количестве микроорганизмов 500 тыс. в 1 мл.

3. Биоценоз активного ила при нормальной работе аэротенка прежде всего представлен различными группами бактерий, среди которых есть гетеротрофы и литотрофы. Численность бактерий в активных илах составляет $10^8 - 10^{12}$ клеток на 1 мг сухого вещества. В активном иле встречаются все морфологические группы бактерий: порядок *Pseudomonadinae* и роды: *Bacillus*, *Bacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus* и др. в нормально работающем иле содержится небольшое количество нитчатых бактерий (сферотилиус и кладотрикс, рис. 9.1).

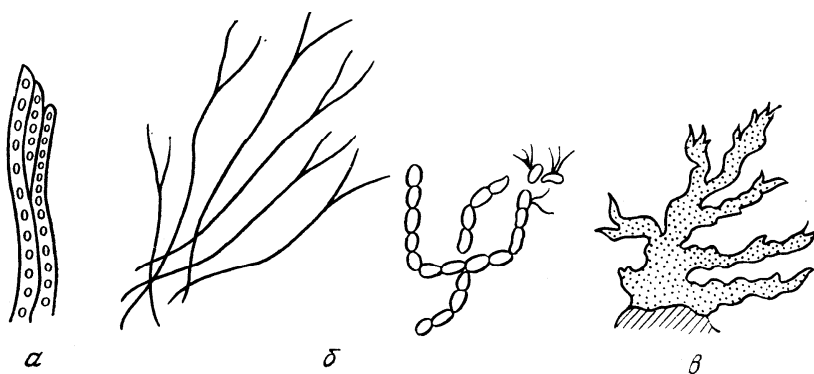


Рис. 9.1 – Нитчатые и зооглейные бактерии

а – *Sphaerotilus natans*; б – *Cladothrix dichotoma*; в – *Zooglea ramigera*.

Бактерии в процессе очистки воды образуют слизистые скопления – зооглеи, которые характерны для хорошо сформированного активного ила. В зооглеях преобладают кокковые и палочковидные формы. В образовании зооглей может участвовать бактерия *Zooglea ramigera*, образующая разветвленные зооглеи в виде лопастей. Основными представителями биоценозов активного ила являются бактерии, осуществляющие биохимические процессы разложения органических веществ. Среди них представлены все группы бактерий, разлагающих безазотистые и азотсодержащие органические соединения и недоокисленные неорганические вещества; протеолиты, гидролизующие белковые соединения; аммонификаторы; бактерии, разлагающие углеводы, жиры, органические кислоты; нитрификаторы; серобактерии и др.

Кроме бактерий в активном иле развиваются грибы и актиномицеты. Водоросли встречаются редко и в небольшом количестве. Актиномицеты и близкие к ним микобактерии разлагают углеводороды, жиры, органические кислоты, углеводы. Плесневые грибы участвуют в разложении углеводов, спиртов, органических кислот, некоторые усваивают органические формы азота. Углеводы и органические кислоты потребляются дрожжами. Соотношение между различными группами микроорганизмов в активных илах приведено на рисунке 9.2.

При затрудненной аэрации или избыточном поступлении в аэротенк органических загрязнений наблюдается смена биоценоза активного ила. При длительности анаэробных условий более 15 минут происходит значительное увеличение количества факультативных анаэробов и подавляется жизнедеятельность аэробных форм. Подобная смена групп микроорганизмов сопровождается образованием неоседающего ила (вспуханием). При этом в активном иле отмечается массовое развитие нитчатых бактерий и грибов (*Fusarium*).

Микрофауна активного ила представлена разнообразными группами простейших (жгутиковыми, саркодовыми, инфузориями), коловратками, встречаются малощетинковые черви (олигохеты), реже – водные клещи.

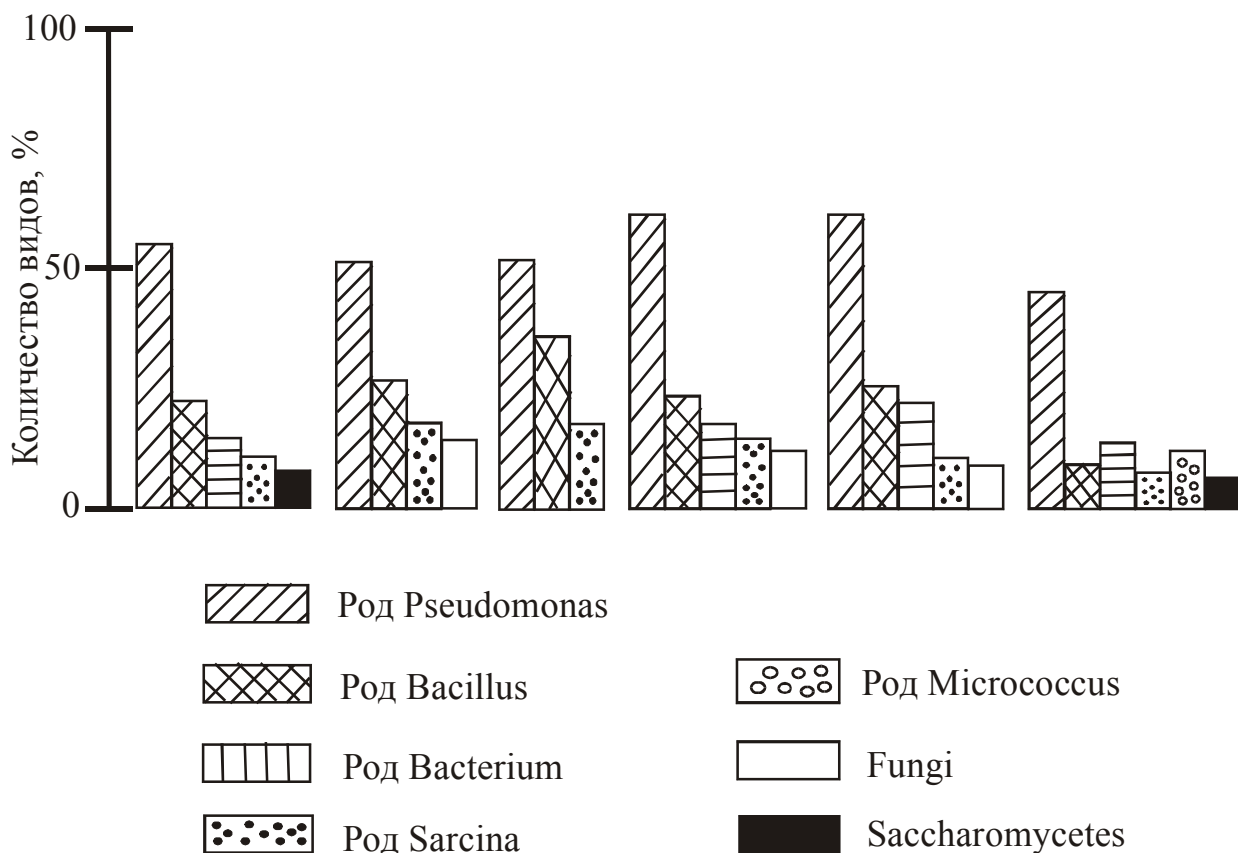


Рис. 9.2 – Соотношение между различными группами микроорганизмов активного ила

Представители микрофауны очень чувствительны к концентрации органических соединений, количеству растворенного кислорода, наличию токсичных соединений. Поэтому в зависимости от изменения степени загрязнения воды в процессе очистки или интенсивности аэрации воды в активном иле наблюдается преобладание различных групп простейших. Так, при сильном загрязнении воды органическими примесями (в начале процесса очистки, при плохой работе аэротенка) в активном иле развиваются в большом количестве из саркодовых мелкие амёбы (например, *Amoeba limax* и др.), бесцветные жгутиковые (р. *Bodo*, *Oicomonas* и др.). Инфузории при неблагоприятных условиях из вегетативных форм превращаются в цисты, а при недостатке растворенного кислорода прикрепленные формы переходят в подвижную стадию. Наименее чувствительны к отрицательным воздействиям из равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum*, а из кругоресничных – *Vorticella microstoma*. При хорошей работе аэротенка в активном иле встречается большое количество видов простейших. Особенно характерны брюхоресничные инфузории: *Aspidisca*, *Stylonichia*, *Euplotes*; кругоресничные: *Vorticella convallaria*, *Opercularia*. Если наблюдается дефицит питательных веществ (голодающий ил), происходит уменьшение размеров инфузорий, и они

начинают инцистироваться. В активном иле, перегруженном органическими примесями, развиваются сосущие инфузории (Suctoria).

В активном иле в период завершения окисления органических веществ и протекания процесса нитрификации в большом количестве развиваются прикрепленные инфузории (например, Carchesium), раковинные (Arcella) и крупные голые амёбы. Довольно часто встречаются коловратки (Philodina, Notommata и др.). Водные клещи и рачки (циклопы) развиваются в голодающем иле. Способность отдельных групп микрофауны развиваться при определенных условиях используется для проведения гидробиологического анализа. При микроскопировании активного ила или биопленки дается характеристика видового и количественного состава микроорганизмов, определяется их жизнеспособность. В сочетании с технологическим анализом это позволяет сделать вывод о работе сооружения. В таблице 9.1 приведены данные о степени развития различных групп простейших при различной работе очистных сооружений.

Таблица 9.1 – Степень развития различных групп простейших при работе очистных сооружений

Организмы	Характеристика работы биологического окислителя			
	Очень плохая	плохая	Удовлетворительная (нитрификация слабая)	Хорошая (нитрификация сильная)
Амебы	Преобладают	Преобладают	Единичные экземпляры	Отсутствуют
Бесцветные жгутиковые	---	---	---	---
Инфузории	Отсутствуют	Мало	Преобладают равновесничные	Преобладают круго- и брюхожесничные
Коловратки	---	---	Преобладают	Преобладают

По результатам гидробиологического анализа определяется режим работы сооружения, нагрузка по органическим веществам, устанавливается факт сброса производственных сточных вод, содержащих токсичные вещества. При характеристике работы сооружения следует учитывать интенсивность развития индикаторных форм микроорганизмов, а не отдельных видов. Анализ кривых роста бактерий и других микроорганизмов показывает, какие микроорганизмы сопутствуют определенной фазе развития бактериальной микрофлоры активного ила. Так, фаза задержки роста бактерий в активном иле сочетается с преобладанием в нем амёб и жгутиковых. В логарифмической фазе из простейших наибольшее развитие получают жгутиковые, увеличивается количество свободно плавающих инфузорий.

Эта фаза соответствует интенсивному разложению органических примесей, но скоплений бактерий не образуется. В фазе замедленного роста и стационарной фазе количество бактерий почти не изменяется, но идет образование хлопка активного ила. Этой фазе соответствует максимум развития свободноплавающих инфузорий. Фаза отмирания бактерий (эндогенная) соответствует окончанию разложения органического вещества. Численность бактерий уменьшается в результате отмирания из-за недостатка питательных веществ и потребления их простейшими. В этой фазе из простейших преобладают прикрепленные инфузории, присутствуют свободноплавающие и коловратки. Окисление клеточного материала отмирающих бактерий идет параллельно с процессом нитрификации (нитрифицирующий ил). Роль простейших сводится к поеданию бактерий, а также к потреблению взвешенных веществ.

Процесс минерализации органических веществ может нарушаться в присутствии токсичных соединений, ПАВ, тяжелых металлов и др. Биологическая токсичность примесей производственных сточных вод оценивается по изменению дегидрогеназной активности. Дегидрогеназа – окислительно-восстановительный фермент, участвующий в процессе дыхания. Она чувствительна к действию токсичных соединений. По степени подавления активности дегидрогеназы у микроорганизмов активного ила или биопленки можно судить о влиянии этих соединений на их жизнедеятельность. Определение проводится в присутствии индикаторов, изменяющих окраску при переходе из окисленного состояния в восстановленное под действием дегидрогеназы.

Способность активного ила к осаждению характеризуется **иловым индексом**. Эта величина определяется по объему ила, образующегося после 30-минутного отстаивания жидкости, содержащей 3 мг/л ила. Соотношение между объемом (мл) ила и массой сухого вещества, содержащегося в 1 г ила, называется иловым индексом. При хорошей работе **аэротенка** иловый индекс составляет 100-120 мл/г. Повышение илового индекса до 150-200 мл/г свидетельствует о нарушении работы аэротенка. Биологическая очистка считается полной, если БПК_{полн} очищенной сточной воды составляет менее 20 мг/л, и неполной, если БПК_{полн} превышает 20 мг/л. Полная биологическая очистка может проводиться в двух режимах: обычная аэрация (до начала нитрификации и минерализации активного ила) и длительная аэрация (полное окисление), при которой достаточно минерализуется активный ил и идет процесс нитрификации. Понятие «полная биологическая очистка» является условным, так как часть биологически окисляющихся и неокисляющихся в этих условиях органических соединений остается в очищенной воде.

4. Биохимическая очистка в биофильтре. Микроорганизмы биопленки. Биофильтры начали применять в конце XIX в. (в Англии – в 1893 г.). В России они появились в 1908 г. В настоящее время биофильтры относятся к числу наиболее распространенных систем биологической очистки сточных вод. Отличительной особенностью биофильтров является наличие загрузки, на поверхности которой развивается биопленка микроорганизмов. Биофильтры, в

отличие от аэротенков, эксплуатируются без возврата ила из вторичных отстойников – оторвавшиеся частицы микробной пленки после отделения их во вторичном отстойнике не возвращаются обратно в биофильтр, а отводятся на иловые площадки.

Большинство конструкций биофильтров составляют перколяционные биофильтры, выполненные в виде емкости круглой или прямоугольной формы в сечении, загруженной фильтрующим материалом. В них вода поступает сверху на загрузку (перколяционный слой), а воздух снизу. Для равномерного орошения всей поверхности загрузки сточная жидкость подается на биофильтр через специальные водораспределительные устройства. Вся поверхность биофильтра орошается с возможно малыми перерывами. Проходя через загрузочный материал, загрязненная вода очищается микроорганизмами биопленки, адсорбирующими и окисляющими загрязнения, при этом масса активной биопленки в теле фильтра увеличивается. Омертвевшая и отработавшая биопленка смывается протекающей сточной водой и выносится из тела биофильтра. Скорость протекания жидкости через биофильтр изменяется в зависимости от размера загрузочного материала.

Биохимические процессы разложения органических веществ в **биофильтре** осуществляются микроорганизмами **биологической пленки**, формирующейся на зернах загрузки в период его созревания. Население биопленки представлено в основном теми же группами микроорганизмов, что и в биоценозе активного ила. Но в ней более широко представлены зеленые, сине-зеленые и диатомовые водоросли, а также грибы, черви, личинки насекомых. Степень развития различных групп микроорганизмов в биофильтре определяется составом сточных вод, условиями обработки воды. Видовой состав биопленки подвержен также сезонным колебаниям. Водоросли развиваются в верхних слоях, но диатомовые могут встречаться и в нижних слоях загрузки. Простейшие также развиваются преимущественно в верхних (в неорошаемой зоне) и в нижних слоях биофильтра. Бактерии населяют все слои загрузки биофильтра. В отличие от биоценоза активного ила в биопленке содержится большое количество анаэробов, иногда до 29%. В нижних слоях загрузки наблюдается развитие большого количества червей (зона червей). Смена биоценозов по высоте загрузки характерна для биофильтров. В них живут микроорганизмы, свойственные α - и β -мезосапробной зонам. В верхних слоях живут микроорганизмы α -мезосапробной зоны: здесь встречается большое количество нитчатых бактерий, водорослей, грибов, из простейших – бесцветные жгутиковые. В средних слоях количество этих микроорганизмов уменьшается и на смену им приходят брюхо- и кругоресничные инфузории. Нижние слои заселены микроорганизмами β -мезосапробной зоны. Бактериальное население представлено авто- и гетеротрофами.

Контрольные вопросы

1. Что представляют собой почвенный методы очистки?
2. Чем обусловлен процесс очистки в почве?

3. Какую роль в очистке играют сорбционные характеристики почв?
4. Охарактеризуйте активный слой.
5. Что влияет на степень биохимической очистки почвенными методами?
6. Сооружения, в которых происходит окисление органических веществ в аэробных искусственных условиях.
7. Что такое активный ил?
8. Микроорганизмы активного ила.
9. Роль бактерий и простейших в активном иле.
10. Микроорганизмы биопленки.
11. Сравнение активного ила и биопленки

Лекция 10. Биологическое окисление органических веществ в анаэробных условиях

Общее направление биохимических процессов

Маслянокислое и метановое брожение

Разложение азотсодержащих соединений. Процесс денитрификации.

Биохимические процессы, протекающие при разложении осадка сточных вод

1. Общее направление биохимических процессов. Осадок, образующийся в первичных отстойниках, и избыточный активный ил подвергаются специальной обработке для предотвращения их загнивания, улучшения структуры, уменьшения объема и облегчения их обезвоживания. Обычно эта обработка заключается в частичном биохимическом разложении органических веществ в анаэробных условиях. Этот прием обработки осадка называется сбраживанием. Рассмотрим основные направления биохимического разложения органических веществ в анаэробных условиях. Основу этих процессов составляют различные виды брожения.

Процессы брожения осуществляются в специальных аппаратах - метатенках. Распад органических веществ состоит из трех этапов:

- растворение и гидролиз органических соединений;
- ацидогенез;
- метаногенез.

На первом этапе сложные органические вещества превращаются в масляную, пропионовую и молочную кислоты. На втором этапе эти органические кислоты превращаются в уксусную кислоту, водород, углекислый газ. На третьем этапе метанообразующие бактерии восстанавливают диоксид углерода в метан с поглощением водорода. По видовому составу биоценоз метатенков значительно беднее аэробных биоценозов.

Насчитывают около 50 видов микроорганизмов, способных осуществлять первую стадию - стадию кислотообразования. Самые многочисленные среди них - представители бацилл и псевдомонад. Метанообразующие бактерии имеют разнообразную форму: кокки, сарцины и палочки. Этапы анаэробного

брожения идут одновременно, а процессы кислотообразования и метанообразования протекают параллельно. Уксуснокислые и метанообразующие микроорганизмы образуют симбиоз, считавшийся ранее одним микроорганизмом под названием *Methanobacillus omelianskii*.

Процесс метанообразования - источник энергии для этих бактерий, так как метановое брожение представляет собой один из видов анаэробного дыхания, в ходе которого электроны с органических веществ переносятся на углекислый газ, который восстанавливается до метана. В результате жизнедеятельности биоценоза метатенка происходит снижение концентрации органических веществ и образование биогаза, являющегося экологически чистым топливом.

Брожение целлюлозы. Целлюлоза устойчива к действию химических соединений, не подвергается изменению в пищеварительном тракте человека, накапливается в большом количестве в почве и на дне водоемов. Она составляет значительную часть осадка, образующегося в первичных отстойниках. Брожение целлюлозы начинается с ферментативных реакций образования глюкозы, которая затем сбраживается с образованием органических кислот, этилового спирта, диоксида углерода, водорода. Разложение целлюлозы осуществляется облигатными анаэробами-бактериями, относящимися к роду клостридий (*Clostridium*). Это подвижные палочки, образующие внутри клеток крупные споры. Среди них есть мезофильные (оптимальная температура развития 30-35°C) и термофильные (оптимальная температура существования около 60°C) формы. При брожении целлюлозы в зависимости от условий образуются и другие соединения. Ниже приводятся основные продукты, получающиеся при брожении целлюлозы различными видами бактерий. При мезофильном брожении бактериями *Clostridium omelianskii* образуются уксусная, молочная и муравьиная кислоты, этиловый спирт, CO₂, H₂; бактериями *Clostridium dissolvens* – масляная, уксусная и молочная кислоты, этиловый спирт, CO₂, H₂; бактериями *Clostridium cellobiophagum* – уксусная, муравьиная и молочная кислоты, этиловый спирт, CO₂, H₂. При термофильном брожении бактериями *Clostridium thermocellum* образуются уксусная, молочная, муравьиная кислоты, этиловый спирт, CO₂, H₂. Термофильные бактерии более полно разлагают целлюлозу, и процесс брожения идет значительно быстрее. В таблице 10.1 приведены данные, характеризующие зависимость между температурой, скоростью и глубиной разложения целлюлозы бактериями.

В качестве азотистого питания целлюлозоразлагающие бактерии используют органические соединения, аммонийные соли, а некоторые из них способны усваивать свободный азот.

Таблица 10.1– Изменение скорости и глубины распада целлюлозы в зависимости от температуры сбраживания

Температура брожения, °С	Продолжительность брожения, сут.	Сброжено целлюлозы, %	Содержание спиртов в среде	
			г/л	%
62	5	91,7	6,0	20,0
45	30	69,0	0,36	3,8
35	120	41,0	0,16	0,1

2. Маслянокислое и метановое брожение. Особенностью этого вида брожения является образование масляной, уксусной кислоты, углекислого газа и водорода. Оно вызывается маслянокислыми бактериями (*Clostridium butyricum*). В качестве побочных продуктов могут получиться ацетон, бутиловый спирт. Они сбраживают простые и сложные углеводы (целлюлозу, глюкозу, пектиновые вещества), соли органических кислот. Схему маслянокислого брожения суммарно можно записать так:



Брожение идет через стадии образования пировиноградной кислоты с ее последующим преобразованием. Источником азота для маслянокислых бактерий служат пептоны, аминокислоты и аммонийные соли, некоторые из бактерий используют также свободный азот. Углеводы для них служат источником энергии и углерода. Возбудители маслянокислого брожения являются облигатными анаэробами. Это крупные, подвижные спорообразующие палочки длиной 3-10 мкм и диаметром 0,5-1,5 мкм. Оптимальная температура для их развития составляет 35-37°C, предельные значения pH 6-8.

Брожение пектиновых веществ. Это брожение осуществляется бактериями и грибами, гидролизующими пектиновые вещества с образованием менее сложных органических соединений, которые затем сбраживаются до масляной и уксусной кислот, водорода и диоксида углерода. Возбудителями брожения пектиновых веществ являются облигатные анаэробы (*Clostridium felsineum*, *Clostridium pectinovorum*).

Разложение жиров в анаэробных условиях также проходит через стадию образования глицерина и жирных кислот, которые затем через ряд последовательных превращений сбраживаются с образованием метана и диоксида углерода. Возбудителями анаэробного разложения жиров и жироподобных соединений являются *Clostridium perfringens*, *Cl. sporogenes* и другие микроорганизмы. Глицерин через стадию образования пировиноградной кислоты сбраживается с образованием различных продуктов. Высшие жирные кислоты подвергаются сбраживанию, сопровождающемуся разрывом углеродной цепи и образованием низших кислот.

Описанные ферментативные процессы составляют **первую стадию** разложения органических соединений в анаэробных условиях, которая

называется **кислым или водородным брожением**. Образующиеся на первой стадии органические кислоты, спирты и другие соединения затем подвергаются превращениям, которые заканчиваются образованием метана и диоксида углерода.

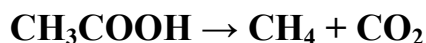
Метановое брожение – сложный процесс, протекающий при участии нескольких групп микроорганизмов. Направленность биохимических процессов и развитие определенных групп метанобразующих микроорганизмов определяются химическим составом разлагающегося субстрата, температурными условиями и нагрузкой на сооружение по органическому веществу. Сущность основных закономерностей метанового брожения заключается в сбраживании органических кислот, спиртов, образующихся на первой стадии брожения, с выделением метана и диоксида углерода. Одновременно может происходить восстановление диоксида углерода водородом до метана. Для метанового брожения характерно участие воды или образование ее в процессе биохимических реакций.

Основные биохимические процессы, протекающие с образованием метана, можно выразить следующими уравнениями:

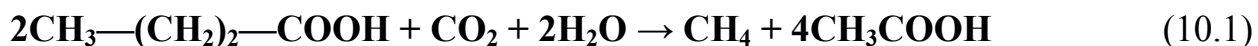
а) брожение органических (жирных) кислот:



**муравьиная
кислота**



**уксусная
кислота**



масляная кислота

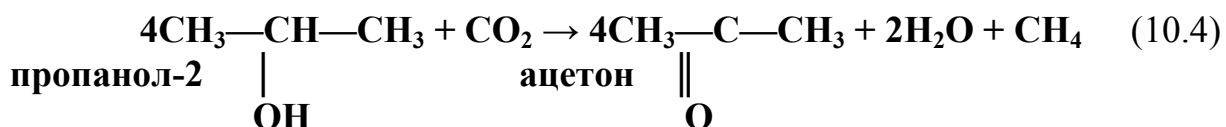
б) спиртов:



метанол



этанол



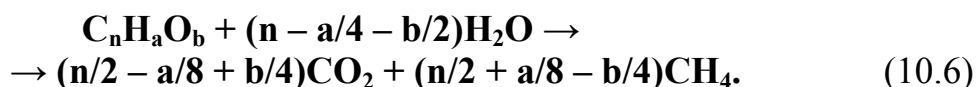
пропанол-2

ацетон

в) восстановление CO_2 водородом:



Около 70-75% метана образуется из уксусной кислоты, а остальное – из диоксида углерода, водорода и других соединений. Общее эмпирическое уравнение метанового брожения с участием воды для веществ, содержащих углерод, водород и кислород, имеет вид:



Основными возбудителями метанового брожения являются следующие виды бактерий (палочковидные и кокковые формы): *Methanobacterium söhngrenii*, *Methanococcus mazei*, *Methanosarcina methanica*, сбразивающие соли органических кислот; *Methanobacterium omelianskii*, сбразивающая спирты; *Methanococcus vannielii*, вызывающая восстановление диоксида углерода водородом. Метановое брожение вызывается как органотрофными микроорганизмами, так и литотрофами при участии фермента ферредоксина, витамина В₁₂. Коферменты НАД и НАДФ ингибируют эти реакции. Процессы образования метана используются микроорганизмами в энергетическом обмене. Метановое брожение происходит в нейтральной или слабощелочной среде.

3. Разложение азотсодержащих органических соединений в анаэробных условиях. Процесс денитрификации Разложение белковых соединений в анаэробных условиях заканчивается образованием таких продуктов неполного распада, как амины, аминокислоты ароматического ряда, меркаптаны, сероводород. Многие из образующихся веществ имеют неприятный запах.

Анаэробное разложение белков вызывается спорообразующими палочками: *Bacillus putrificus*, *Bacillus sporogenes*. Разложению белковых соединений способствуют факультативные анаэробы *Proteus vulgaris*, *Bacteria coli*. Степень и интенсивность разложения белковых соединений зависит от химической структуры белка и вида микроорганизмов. Аминокислоты, образующиеся в процессе распада белков в анаэробных условиях, подвергаются восстановительному дезаминированию с образованием предельных органических кислот и аммиака. Органические кислоты могут разлагаться с образованием метана и диоксида углерода. Продуктами аммонификации в анаэробных условиях будут метан, аммиак и диоксид углерода.

Образовавшийся аммиак может накапливаться в разлагающемся субстрате или подвергаться «биологическому закреплению», т.е. усваиваться микроорганизмами. При разложении белков, содержащих серу, образуются тиоспирты, тиоэфиры, сероводород.

Процесс денитрификации. В анаэробных условиях нитраты в результате ферментативных превращений могут восстанавливаться до свободного азота. Этот процесс называется денитрификацией. Денитрифицирующие бактерии широко распространены в водоемах и почве. Наиболее энергичные возбудители процесса денитрификации: *Bacterium denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens*. Восстанавливать нитраты могут некоторые серобактерии (*Thiobacillus*

denitrificans). Кислород нитратов при этом идет на образование сульфатов, а источником энергии является процесс окисления элементарной серы до сульфатов. Схема этого процесса следующая:



4. Биохимические процессы, протекающие при разложении осадка сточных вод

Осадок сточных вод и концентрированные производственные сточные воды с БПК выше 5 г/л подвергаются биохимическому разложению в анаэробных условиях. Оно может происходить в сооружениях-септиках, представляющих собой отстойник, через который медленно проходит сточная жидкость. В двухъярусном отстойнике осадок отделен от проходящей сточной жидкости, его разложение осуществляется в иловой камере. На очистных сооружениях большой производительности осадок сточных вод выделяется в первичных отстойниках и вместе с избыточным активным илом подвергается сбраживанию в метантенках. Интенсивность и глубина разложения осадка прежде всего определяются его составом, который колеблется по соотношению содержания основных органических компонентов (углеводов, белков, жироподобных соединений) и неорганических веществ. Обычно в осадке городских сточных вод содержится 70-80% органических веществ. Примерный состав осадка (%): белки - 24, углеводы - 23, жироподобные вещества - до 30. Чаще всего при кислотном брожении осадка получаются уксусная, масляная, пропионовая кислоты. Образующиеся газы содержат диоксид углерода, метан, водород, сероводород. Водная фаза имеет кислую реакцию среды ($\text{pH} < 5$), не обладает буферными свойствами, имеет резкий неприятный запах.

Для нормальной работы сооружений (двухъярусных отстойников, метантенков), в которых идет разложение осадка, необходимо создавать условия для непременного прохождения второй стадии – щелочного или метанового брожения. Нормальное течение процесса метанового брожения определяется такими факторами, как температура, время сбраживания, степень перемешивания, соотношение между количеством свежего и сброженного осадка, химический состав осадка, pH , щелочность, концентрация летучих органических кислот, наличие токсичных примесей, биогенных элементов, достаточное количество микроорганизмов. Термофильное брожение имеет ряд преимуществ перед мезофильным. К ним относятся более высокая скорость и глубина распада органических соединений, увеличение объема выделяющегося газа. При перегрузке метантенка свежим осадком создаются условия для протекания кислого брожения. Сбраживание осадка нарушается также при поступлении в бродящую массу веществ, токсичных для метанпродуцирующих бактерий. В таблице 10.2 приведены ПДК некоторых соединений, оказывающих отрицательное влияние на процесс сбраживания осадка.

Таблица 10.2 – Предельно допустимые концентрации (мг/л) некоторых соединений, влияющие на процесс брожения

Соединения	Концентрация		Соединения	Концентрация	
	допустимая	Вредная		допустимая	вредная
Хром (VI)	3	6	Толуол	20	200
Медь (Cu^{2+})	20	30	Амиловый	50	100
Свинец (Pb^{2+})	50	70	спирт	100	200
$\text{Cu}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	7,5-25	25	Ацетон	50	200
			Бензол		

При термофильном брожении наблюдается полное отмирание патогенных микроорганизмов и дегельминтизация. Яйца гельминтов погибают при 49°C в течение 3 ч., а при 53°C – через час. Возбудители брюшного тифа, дизентерии, паратифа отмирают при термофильном брожении через несколько часов. Метановые бактерии очень чувствительны к колебаниям температуры. Поэтому в интервале температур 37-42°C брожение осадка замедляется, что связано с неблагоприятным воздействием температуры, низкой для развития термофилов и высокой – для мезофилов.

Образующийся газ содержит обычно 62-65% метана и 30-35% углекислого газа. Сероводород при нормально протекающем щелочном брожении отсутствует, так как он связывается в форме сульфидов. Водорода содержится не более 0,5%, азота – около 2,2-2,8%. Количество газа и его состав зависят от соотношения различных групп органических загрязнений в осадке. Так, при увеличении количества белков или снижении содержания жиров в осадке выход газов уменьшается.

Метановое брожение протекает в интервале pH 5,6-8,2. Оптимум составляет 7,0-7,6. Несмотря на присутствие кислот, pH бродящей массы изменяется очень незначительно, что связано с буферными свойствами иловой воды, обусловленными присутствием свободной угольной кислоты и гидрокарбонатов. Повышение щелочности вызывается наличием аммонийного азота. Свободная угольная кислота, взаимодействуя с основаниями, частично переходит в гидрокарбонаты, что также способствует повышению pH. Контроль за работой метантенка ведется по качественному составу и количеству образующегося газа, осадка и по иловой жидкости. В иловой воде и сброженном осадке содержится значительное количество биогенных веществ. При нормальном протекании метанового брожения иловая вода должна иметь следующие показатели: pH 6,8-7,5; щелочность 40-60 мг-экв/л; жирные кислоты не более 10-12 мг-экв/л, NH_4^+ более 500 мг/л. Метановое брожение нарушается тогда, когда появляются условия для задержки процесса на стадии кислого брожения. Этому способствуют перегрузка сооружения свежим осадком, малое количество микроорганизмов, резкое колебание температуры и pH свежего осадка ниже оптимума, неравномерное поступление осадка. Нарушение процесса метанового брожения проявляется в снижении выхода газа с единицы объема поступающего осадка, изменении его качественного состава и

уменьшения содержания метана, возрастании количества диоксида углерода и водорода и выделении сероводорода. В иловой воде увеличивается содержание органических (жирных) кислот, снижается щелочность и pH, наблюдается вспенивание осадка, он увеличивается в объеме, изменяется его цвет (из темно-серого он становится грязно-желтым), появляется неприятный запах. Сброженный осадок содержит большое количество соединений азота, фосфора и других биогенных элементов, поэтому после дополнительного обезвоживания и сушки он может быть использован в качестве удобрения.

После высушивания содержание бактерий в иле снижается в 3800 раз по сравнению со сточной жидкостью, а кишечная палочка отсутствует полностью, что указывает на безопасность ила в санитарно-гигиеническом отношении.

Аэробная стабилизация осадка. В последние годы для обработки избыточного активного ила и смеси его с осадком из первичных отстойников используется аэробная стабилизация. Она заключается в частичном окислении органических примесей, входящих в состав твердой фазы, при длительной аэрации в сооружениях типа аэротенков. Эффективность обработки осадка зависит от состава и свойств осадка, длительности и интенсивности аэрации, температуры и других факторов. Длительность аэрации для стабилизации активного ила составляет 7-10 сут., для осадка из первичных отстойников – 10-15 сут. При аэробной стабилизации происходит также самоокисление клеточного вещества бактерий. Изменение свойств осадка, степень разложения органических примесей при использовании этого метода примерно соответствует эффекту, получаемому при анаэробном сбраживании. Иногда процесс аэробной стабилизации называют «аэробным сбраживанием». С этим нельзя согласиться, так как брожение является анаэробным процессом и не может происходить в аэробных условиях.

Контрольные вопросы

1. Сущность анаэробных методов очистки сточных вод..
2. Охарактеризовать этап маслянокислого брожения.
3. Разложение органических веществ в анаэробных условиях.
4. Биохимические процессы, протекающие при разложении осадка сточных вод.
5. Процессы денитрификации.
6. В какой среде протекает разложение органических веществ в анаэробных условиях?
7. Разложение азотсодержащих органических веществ в анаэробных условиях.
8. Охарактеризовать этап метанового брожения.

Лекция 11. Методы биотестирования с использованием беспозвоночных

Понятие о биоиндикации, определение

Различные уровни биоиндикации

Основные требования при биоиндикации

Методика проведения биотестирования

1. Понятие о биоиндикации, определение. Все биологические системы – будь-то организмы, популяции или биоценозы - в ходе своего развития приспособились к комплексу факторов местообитания. Они завладели внутри биосферы определенной областью экологической ниши, в которой находят подходящие участки существования и могут нормально питаться и размножаться. Каждый организм обладает в отношении любого действующего на него фактора генетически детерминированным, филогенетически приобретенным, уникальным физиологическим диапазоном толерантности, в пределах которого этот фактор является для него переносимым. Если фактор отличается слишком высокой или слишком низкой интенсивностью, но еще не летален, то организм находится в физиологическом пессимуме. За пределами некоторого максимального и минимального значения фактора дальнейшая жизнь невозможна.

В ограниченной области интенсивности фактора, особо благоприятной для данной особи, организм существует в условиях физиологического оптимума. Физиологический диапазон толерантности обычно неодинаковый для разных стадий развития организма и для всех особей данных популяций.

При широкой амплитуде толерантности организмы называются **эврипотентными**, при узкой - **стенопотентными**.

Будучи взаимозависимыми, отдельные факторы могут до известной степени взаимозаменяться. Различные сочетания факторов вызывают сходные эффекты, хотя их полной взаимозаменяемости не происходит. Поэтому в природе существуют отличающиеся по присутствию и размерам от физиологических (потенциальных) диапазонов толерантности экологические диапазоны присутствия (экологические потенции) отражающие фактическую реакцию организма при воздействии всех факторов среды. Физиологическая толерантность и экологическая потенция организма определяют его индикаторную способность. В результате каждая биологическая система (организм, популяция, биоценоз) характеризует зависящие от времени воздействия на нее факторы среды - природные, измененные человеком или антропогенные. Метод оценки абиотических и биотических факторов местообитания при помощи биологических систем часто называют **биоиндикацией** (лат. *indicare* - указывать).

В соответствии с этим организмы или сообщества организмов, жизненные функции которых так тесно коррелируют с определенными факторами среды, что могут применяться для их оценки, называются **биоиндикаторами**. Это определение относится и к индикации природных условий местообитания в целом, осуществляемой, например, в сельском и

лесном хозяйствах по присутствию растений, характерных для определенного экотопа.

Однако часто понятие биоиндикации, включающее условия сравнения результатов, применяется исключительно для зависящей от времени оценки антропогенных или испытывающих антропогенное влияние факторов среды на основе изменения количественных характеристик биологических объектов и систем.

Антропогенные воздействия, с одной стороны, представляют собой новые параметры среды, с другой - обуславливают антропогенную модификацию уже имевшихся природных факторов и тем самым изменение свойств биологической системы. Если эти новые параметры значительно отклоняются от соответствующих исходных величин, то возможна биоиндикация.

Для количественной оценки значимости отклонений необходимы абсолютные или относительные калибровочные стандарты.

Абсолютные стандарты сравнения:

- а) Сравнение с показателями абсолютной системы, свободной от воздействий.
- б) Экспериментальное исключение антропогенных или антропогенно-модифицированных факторов.
- в) Сравнение с биологическими системами прошлого, слабо или вовсе не подверженными действию антропогенных факторов.
- г) Построение градиента изменений одного и того же объекта вплоть до времени пренебрежимо малого антропогенного воздействия.

Относительные стандарты сравнения:

- а) Корреляция с пространственно-временными изменениями антропогенных или испытывающих антропогенное воздействие факторов среды.
- б) Установление эталонных объектов, испытывающих незначительное или известное антропогенное воздействие.

Существуют различные формы биоиндикации. Если две одинаковые реакции вызываются различными антропогенными факторами, то говорят о **неспецифической биоиндикации**. Если же те или иные происходящие изменения можно связать только с одним фактором, речь идет о **специфической биоиндикации**. Если биоиндикатор реагирует значительным отклонением жизненных проявлений от нормы, то он является **чувствительным биоиндикатором**.

Обычно все виды биоиндикации включены в цепочку последовательно происходящих реакций или процессов. Если антропогенный фактор действует непосредственно на биологический элемент, то речь идет о **прямой биоиндикации**. Но нередко биоиндикация становится возможной только после изменения состояния под влиянием других непосредственно затронутых элементов. В этом случае происходит **косвенная биоиндикация**.

2. Различные уровни биоиндикации. В зависимости от времени развития биоиндикационных реакций можно выделить шесть различных типов **чувствительности**:

I тип: биоиндикатор дает спустя определенное время, в течение которого он никак не отвечал на воздействие (отсутствие эффективного уровня), одноразовую сильную реакцию и тут же теряет чувствительность (выше верхнего эффективного уровня);

II тип: как и в первом случае, реакция внезапная и сильная, однако продолжается известное время, а затем резко исчезает;

III тип: биоиндикатор реагирует с момента появления нарушающего воздействия с одинаковой интенсивностью в течение длительного времени;

IV тип: после немедленной сильной реакции наблюдается ее затухание, сначала быстрое, потом более медленное;

V тип: при появлении нарушающего воздействия начинается реакция, становящаяся все более интенсивной, пока не достигает максимума, а затем постепенно затухает;

VI тип: реакция V типа неоднократно повторяется, возникает осцилляция биоиндикационных параметров.

В биологии под **стрессом** понимается реакция биологической системы на экстремальные факторы среды (стрессоры), которые могут в зависимости от силы, интенсивности, момента и продолжительности воздействия более или менее сильно влиять на систему. В естественных условиях организмы часто подвергаются воздействию различных биотических и абиотических стрессоров.

Толерантность и избегание создают устойчивость к стрессу. Среди вызываемых стрессорами нагрузок на биологические системы следует различать упругие (обратимые) и пластические (необратимые).

За исходным состоянием в ответ на воздействие стрессора прежде всего следует избыточная реакция, которая через стабилизированное состояние ведет к состоянию приспособленности.

Обзор вероятных стрессов в окружающей организм среде приведен на рисунке 11.1.

Невозможно отдельно перечислить все антропогенные стрессоры, которые либо модифицируют имеющиеся факторы среды и тем самым превращают их в стрессовые для многих организмов либо действуют непосредственно.

Все антропогенные стрессоры, как и природные, можно подразделить на абиотические и биотические нарушающие факторы. Они также вызывают либо упругие, либо пластические нагрузки.

Опасность антропогенных стрессоров состоит прежде всего в том, что биологические системы - будь то организмы, популяции или биоценозы - недостаточно адаптированы к ним. Антропогенные стрессоры создаются с такой скоростью, что эти системы часто не успевают активизировать соответствующие адаптационные процессы.

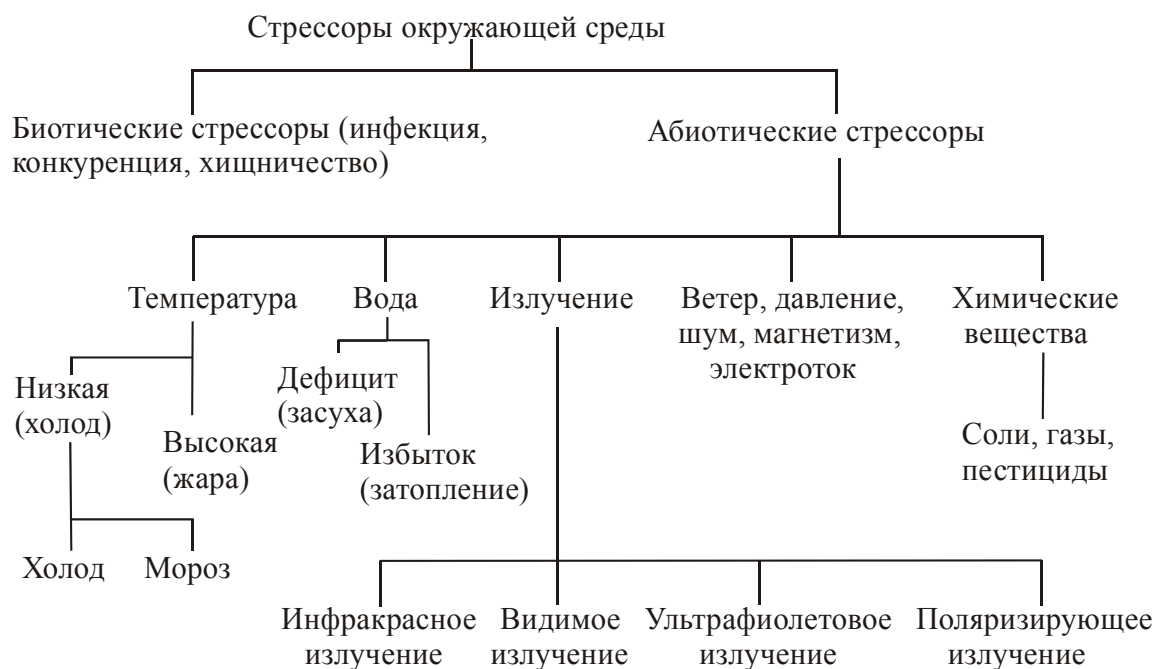


Рис. 11.1 – Стрессоры в окружающей организмы среде

Многие антропогенные стрессоры среды потому и становятся опасными для живого, что они крайне отличны по величине, интенсивности, продолжительности и моменту воздействия от той обычно существующей нормы, к которой адаптированы биологические системы. В результате они часто влияют на диапазон толерантности, что нередко приводит к превышению допустимой нагрузки на организмы и распаду биологической системы.

Биоиндикация может осуществляться на различных уровнях организации живого (макромолекула, клетка, орган, организм, популяция, биоценоз). Обычно с повышением уровня организации биологических систем возрастает и их сложность, т.к. одновременно все больше усложняются их взаимосвязи с факторами местообитания. В соответствии с организационными уровнями биологических систем можно установить различные **уровни биоиндикации**, которые, впрочем, нельзя строго разграничить:

1-й уровень: биохимические и физиологические реакции;

2-й уровень: анатомические, морфологические, биоритмические и поведенческие отклонения;

3-й уровень: флористические, фацесистические и хорологические изменения;

4-й уровень: ценоотические изменения;

5-й уровень: биогенотические изменения;

6-й уровень: изменения ландшафтов.

Для биоиндикации пригодны в основном два метода - пассивный и активный мониторинг. В первом случае у свободно живущих организмов исследуются видимые или незаметные повреждения или отклонения от нормы, являющиеся признаками стрессового воздействия. При активном мониторинге

пытаются обнаружить те же самые воздействия на тест-организмах, находящихся в стандартизированных условиях на исследуемой территории.

3. Основные требования при биоиндикации. При биоиндикации следует учитывать четыре основных требования:

- 1) относительная быстрота проведения;
- 2) получение достаточно точных и воспроизводимых результатов;
- 3) присутствие объектов, применяемых в целях биоиндикации, по возможности в большом количестве и с однородными свойствами;
- 4) диапазон погрешностей по сравнению с другими методами тестирования не более 20%.

Санитарное состояние водоема оценивают физико-химическими, бактериологическим и биологическим методами, в последнее время особое значение приобретают токсикологические методы. Наилучших результатов можно достигнуть путем совместного применения этих методов обследования и сопоставления полученных результатов.

Под **биологическим методом** (биоиндикацией, биотестированием) понимают оценку состояния водоема по составу растительного и животного населения и тестом на токсичность. Водоем реагирует на загрязнение целым комплексом взаимосвязей биотической и абиотической среды. Поэтому при биологическом исследовании (биотестировании) изучают водоем в целом - воду, дно, берега, а не только организмы, населяющие водоемы. Преимуществом биоиндикации перед другими методами является возможность показать не только единовременное состояние водоема, но также предшествующие условия, в которых развились биоценозы, а также состояние водоема в ближайшей перспективе.

При исследовании водоемов на больших пространствах предварительное биологическое обследование предшествует всем остальным. На основании результатов этого обследования составляют подробный план дальнейших работ. Если загрязнение резко выражено, можно удовлетвориться результатами предварительного биологического осмотра, не прибегая к подробному изучению водоема. Санитарно-биологическое исследование может сигнализировать о наличии в водоеме вредных (токсичных) веществ. Прежде чем приступить к обследованию, необходимо иметь сведения о морфометрии, режиме водоема, расходах воды, характере водозаборной площади, расположении, количестве и качестве выпусков сточных вод, наличии загрязненных территорий вдоль берегов водоема. В момент осмотра водоема отмечают температуру воды; прозрачность воды в водоеме; наличие или отсутствие пленок на поверхности воды; запах от воды; особенности цвета воды; наличие водной растительности - макрофитов или нитчаток, загрязнение берегов; заиленность дна, характер ила; пленки нефтепродуктов на дне; характер биологических обрастаний.

При предварительной биоиндикации пробы обрастаний и микробентоса просматривают в живом виде. В массовых формах необходимо определить каждый вид на основании списков сапробных индикаторов. На основе сопоставления результатов визуальных наблюдений и физико-химических

экспресс-анализов дают предварительное заключение о степени загрязнения данного пункта водоема.

При оценке биоценозов, в которые входят как планктон, так и бентос, всегда следует учитывать большое значение бентоса. Так, если сравнительно чистая река имеет короткий, но сильно загрязненный участок, то планктонные организмы вышележащей чистой зоны могут проходить через загрязненный участок, не отмирая. Для загрязненного участка эти организмы совсем не показательны. Действительную степень загрязненности, характерную для данного участка, будут отражать бентосные организмы, прикрепленные к различным предметам на дне водоема. Чем выше скорость течения реки, тем меньшее значение при оценке загрязненности следует придавать планктону. При медленном течении воды в водоеме санитарное значение планктона и бентоса идентичное. В чистом и умеренно загрязненном водоемах обрастания обычно состоят из бахромы зеленых или бурого налета диатомовых водорослей, в загрязненных местах - из хлопьевидных белых или серых обрастаний нитчатых бактерий, грибов или инфузорий.

Пробы рекомендуется отбирать ниже выпуска источника загрязнения, по возможности на всем протяжении загрязнения водоема, а также для сравнения - в чистом пункте выше выпуска. Для полной биологической характеристики должны быть учтены все сообщества: обрастания, бентос, планктон, контактная зона ил-вода, макрофиты и др. Но практически при единичном обследовании можно ограничиться рассмотрением наиболее типичных сообществ. Например, для малых водостоков это обрастания, для рек - планктон, бентос, перифитон, для прудов - заросли макрофитов и т.д.

Обрастания собирают скребком, переносят в лабораторию в термосе, чтобы сохранить пробу для микроскопирования в живом виде. Впоследствии ее фиксируют формальдегидом, доводя его концентрацию в пробе до 4 или 2%, и затем окончательно определяют виды. Учитывают сапробность и частоту встречаемости организмов.

Количественные (численность и биомасса) исследования организмов водоема проводят в следующих случаях: при сравнении выше и ниже стока; на одном пункте в разные периоды; для получения данных, характеризующих продукцию живых организмов в водоеме, которая позволяет количественно оценить процессы самоочищения, а также дать возможность прогнозировать состояние водоема.

4. Методика проведения биотестирования. В любом водоеме имеются сложные биологические сообщества микроорганизмов. Каждой степени загрязненности воды органическими веществами соответствует определенная микрофлора и микрофауна. Отсюда возникает возможность для каждой степени загрязнения водоема (зоны сапробности) установить показательные организмы, наличие которых в водоеме свидетельствует об определенном качестве воды, или по количеству микроорганизмов в водоеме установить степень загрязненности воды.

Способность организмов обитать в условиях разной степени сапробности объясняется потребностью в органическом питании и выносливостью к

вредным веществам, образующимся в процессе разложения органического вещества.

Зоны сапробности - это зоны различной степени разложения органического вещества.

Метод определения сапробности водоема по методу Пантле и Бунка позволяет сравнить состояние водоема в разных пунктах, например, по продольному профилю реки, и представить результаты в цифровом и графическом виде их. Зонам сапробности придается цифровое значение от 1 до 4 в порядке возрастания загрязнения. Определяется также частота встречаемости h организмов в сообществе. Обе величины входят в формулу для вычисления индекса сапробности:

$$Ind S = \Sigma(sh)/(\Sigma h) \quad (11.1)$$

Наряду с девятибалльным обозначением частот h вводят понятия "обнищание" и "мертвая" зона, что особенно характерно для промышленных стоков.

Для количественного учета микробентоса и обрастаний 10 мл образца, содержащего примерно 1/4 пробы и 3/4 воды, переносят в чашку Петри диаметром 9 см и рассматривают под микроскопом при 100-кратном увеличении. Более мелкие объекты микроскопируют на предметном стекле с покровным стеклом 24x24 мм. Просматривают 50 полей зрения не менее чем на трех препаратах. Число организмов оценивают по шкале частот после перечисления на 100 полей зрения соответственно категориям крупности:

I категория - организмы размером до 50 мкм;

II категория - то же, размером 50-200 мкм;

III категория - то же, размером 200-1000 мкм.

Частоту встречаемости учитывают по девятибалльной шестиступенчатой шкале частот со следующими обозначениями: 1- очень редко; 2 - редко, 3 - нередко, 5 - часто, 7 - очень часто, 9 - масса.

Трудности определения видов организмов-индикаторов и токсического влияния промышленных сточных вод на водоем ограничивают применение метода сапробных индикаторов. Чаще используется количественная сравнительная характеристика водоема ниже и выше выпуска. При этом не обязательно определение организмов производить до видов, можно их распределить на более крупные систематические группы: пиявки, моллюски, ракообразные, жуки и т.д. В литературе предлагаются различные индексы для оценки изменения под влиянием загрязнения качественного и количественного состава биоценозов выше и ниже стоков.

Индекс Вудивиса. Эта система основана на анализе макрозообентоса и обрастаний главным образом в зоне макрофитов. Индекс определяют по таблице 11.1. Значение индекса зависит от видового разнообразия и состава организмов. В таблице указана последовательность исчезновения из биоценозов организмов по мере увеличения загрязнения. Индекс изменяется от 10 в чистых водоемах до 1 в загрязненных.

Дополнением к характеристике по таблице Вудивиса, поскольку сильное органическое загрязнение сопровождается во многих случаях массовым

развитием турбицид, может служить **индекс i-биомассы личинок и насекомых** (биомасса олигохет, которая уменьшается при загрязнении).

Таблица 11.1 - Классификация биологических проб по Вудивису

Присутствующие организмы	Количество присутствующих видов	Общее число присутствующих групп				
		0-1	2-5	6-10	11-15	> 16
		Биотический индекс				
Личинки веснянок	Больше 1 вида	-	7	8	9	10
	Только 1 вид	-	6	7	8	9
Личинки поденок	Больше 1 вида	-	6	7	8	9
	Только 1 вид	-	5	6	7	8
Личинки ручейников	Больше 1 вида	-	5	6	7	8
	Только 1 вид	4	4	5	6	7
Таммарус	Все	3	4	5	6	7
Азелеос	вышеназванные	2	3	4	5	6
Тублорициды и/или (красные) личинки пиранопид	есть виды отсутствуют	1	2	3	4	-

Характерными видами в загрязненных водоемах обычно являются *Tubitextubitex* и *Limnodrilus sp.* В чистых водах число этих форм 0,1-2, в среднезагрязненных - 1-10 и в очень сильнозагрязненных - более 50 тыс. олигохет на 1 м². Этот индекс подвержен сильным сезонным колебаниям из-за периодического вылета насекомых.

Индекс видового разнообразия Маргалефа. В загрязненных водоемах разнообразие видов обычно уменьшается. Поскольку количество видов пропорционально логарифму изученной площади, а общее количество особей пропорционально площади, в качестве меры разнообразия предложена формула:

$$d = (S - 1) / I_n N, \quad (11.2)$$

где **S** - количество видов;

I_n N - натуральный логарифм количества особей;

d - принимает максимальное значение, если все особи принадлежат к разным видам (**S** = **N**), и равен нулю, когда все особи принадлежат к одному виду (**S** = 1). По мере загрязнения **d** будет уменьшаться.

Тесты токсичности чаще всего проводят на дафниях и аквариумных рыбках.

Тест токсичности на рыбах. Используется аквариумная рыбка гуппи *Lebistes reticulatus*. Для разведения и контроля применяют отстоянную водопроводную воду. Опыты проводят в течение 48 час на рассеянном свете, иногда допустима продувка воды воздухом. Глубина сосуда не более 20 см. В опытные сосуды помещают 4 рыбки на 1 л воды и наблюдают за их поведением и состоянием. Летальную дозу **LD₅₀** определяют через 24 и 48 часов при

статистической обработке результатов опытов. Безвредной считается такая концентрация, при которой поведение рыбок не отличается от контрольных.

Тест токсичности на инфузориях. Инфузории, весьма распространенные в водоёме, составляют 50-70% гетеротрофного микропланктона. Наблюдения показали, что инфузории в силу своих физиологических особенностей проявляют большую чувствительность к изменению внешней среды.

Короткий цикл их развития позволяет проследить действие отдельных токсикантов на нескольких поколениях за короткий срок. Инфузории в качестве тестобъекта пригодны для биотестирования широкого класса веществ (тяжелые металлы, органические соединения), сточных вод различных производств и загрязненных природных вод. Для биотестирования используют как пресноводные, так и морские организмы.

Критерием токсичности служит изменение прироста численности клеток (темпа деления) инфузорий, угнетение которого свидетельствует о нарушении процесса размножения.

Метод биотестирования на инфузориях используют для:

- контроля токсичности установившихся сбросов сточных вод (плановый контроль);

- контроля залповых сбросов сточных вод;

- оценки токсичности отдельных компонентов сточных вод;

- контроля процесса и глубины очистки сточных вод;

- контроля оценки качества природных вод.

Выделяют инфузорий из природных морских (или пресных) вод методом концентрирования отобранной пробы объёмом 5 л до 40 мл путём фильтрации через мембранный фильтр с размером пор 3-5 мкм. Осадок с фильтра осторожно смывают в чашку Петри и добавляют корм - сухие хлебопекарные дрожжи (1 мм^3). Через 1 и более суток происходит массовое развитие инфузорий как в видовом, так и в количественном отношении.

Интересующие виды инфузорий переносят с помощью капиллярной пипетки в чашки Петри для дальнейшего культивирования.

В лабораторных условиях инфузории хорошо культивируются при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ \text{C}$), естественном освещении (следует избегать попадания прямых солнечных лучей). Можно использовать лампы дневного света, устанавливая их сверху на расстоянии 60 см от чашек.

Культуральная среда солёностью 18‰ (18 г/л) имеет следующий состав: (в г на 1 л дистиллированной воды): NaCl - 14,18; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 3,55; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 2,83; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,74; KCl - 0,33; NaHCO_3 - 0,13; KI - 0,003; NaNO_3 - 0,005; NaBr - 0,05; Na_2HPO_4 - 0,03; SrCl_2 - 0,01.

Среду стерилизуют дробным кипячением на водяной бане. Корм - высушенные и измельчённые сухие хлебопекарные дрожжи - вносят в чашки Петри по 1-2 кусочка размером около 1 мм^2 .

Для биотестирования используют пресноводные инфузории: класс *Ciliata*, подкласс *Holotricha*, отряд *Hymenostomata*, *Tetrachymena pyriformis*.

Инфузория тетрахимена имеет удлинённую грушевидную форму, размер 20x50 мкм, вес $1,5 \cdot 10^{-9}$ г. Клетка имеет равномерный ресничный покров, размножается делением каждые 2,5-6 ч. В лабораторных условиях хорошо культивируется при комнатной температуре $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Культуральная среда УСД (углеводно-солевая дрожжевая): на 100 мл дистиллированной воды глюкозы - 1,5 г, морской соли - 0,1 г, дрожжевого экстракта - 0,1.

Для интенсивного выведения культуры (получения культуры с высокой плотностью) используется среда пептонная: на 100 мл дистиллированной воды глюкозы - 0,5 г, пептона бактериологического - 2 г, дрожжевого экстракта - 0,1, морской соли - 0,1 г.

Среды стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм. в течение 30 мин или дробным кипячением на водяной бане в течение 3 сут. по 30 мин.

Морские инфузии. Наиболее чувствительным и легко определяемым показателем токсичности является нарушение темпа деления клеток, которое выражается в снижении прироста численности клеток в % от контроля. Прирост численности клеток равен

$$\Delta N = N_t - N_0, \quad (11.3)$$

где N_t - численность клеток в конце опыта (или предыдущие сутки подсчёта);
 N_0 - численность клеток в начале опыта (или предыдущие сутки подсчёта).

Снижение прироста численности клеток равно

$$EC = 100\% \Delta N (\text{в \% от контроля}).$$

Пресноводные инфузии. Критерием токсичности служит показатель размножения, за который принимается прирост численности, кратный количеству клеток в 1 мл пробы (А):

$$A = \frac{N_k}{N_H} \quad (11.2)$$

где N_H - начальное количество клеток;

N_k - количество клеток в каждые последующие сутки.

Токсичной считается концентрация (разбавление) сточной воды, вызывающая достоверное отклонение показателя токсичности в опыте по сравнению с контролем.

Метод биотестирования с использованием дафний. Дафнии (ветвистоусые рачки) - наиболее широко применяются в водной токсикологии. Обусловлено это тем, что дафнии, распространенные в природе, легко культивируются, обладают высокой чувствительностью к токсикантам различной природы. В ряде стран они являются стандартным тест-объектом при оценке токсичности воды. В Украине тест с дафниями обязателен при установлении ПДК отдельных веществ в воде рыбохозяйственных водоёмов.

Оценку токсического воздействия на рачков проводят по следующим биологическим показателям:

- выживаемость;

- плодовитость;
- количество потомства.

Метод биотестирования с использованием дафний по результатам апробации биотестов, проведенной временной научно-технической комиссией, рекомендован в качестве основного для контроля токсичности сточных вод и перспективного для оценки уровня токсического загрязнения природных вод.

Этот метод положен в основу «Методики определения острой летальной токсичности воды на ракообразных *Ceriodaphia affinis* Jiljeborg», являющейся руководящим нормативным документом, введенным в действие 01.08.1997 г.

Методика проведения биотестирования. Перед тестированием пробы фильтруют через планктонный фильтр, чтобы удалить взвешенные частицы, забивающие фильтровальный аппарат дафний. Определяют острую и хроническую токсичность для дафний, тестируемых проб.

Острый опыт: длительность 90-120 ч, позволяет определить наличие или отсутствие острого токсичного воздействия на дафний, контролируемой воды или испытуемого вещества. В остром опыте исследуют 5-7 разбавлений опытной воды или растворов с разными концентрациями отдельного вещества. Растворы готовят на воде, используемой для культивирования рачков. Разбавление сточных вод производят с коэффициентом 2-10 в зависимости от токсичности воды. Токсичность определённая химическими соединениями испытывается, начиная с 10-100 мг/л. Опыт ставят в тройной повторности, в каждый стакан наливают по 200 мл тестируемой воды или раствора вещества и помещают по 10 дафний. Каждая серия опытов сопровождается контрольным испытанием.

Основным показателем является **выживание рачков**. Наблюдение за выживаниями рачков проводят непрерывно в течение 2 часов, затем ежечасно до конца первого дня наблюдений, а в последующие сутки 2-3 раза в день. Время гибели рачков отмечают по наступлению неподвижности (хемобилизации): дафнии лежат на дне стакана, плавательные движения отсутствуют и не возобновляются при лёгком прикосновении струёй воды или покачиванием стакана. При обработке результатов проводят сравнение выживаемости дафний в опытном и контрольном сосудах.

Хронический опыт: глубокое, более тщательное исследование токсичных свойств сточных вод не природных или отдельных веществ. Основными показателями являются: выживаемость, плодовитость, качество потомства и рост в ряду колоний. Тестируют сточную или природную воду без разбавления и с разбавлением в 2, 4, 6 раз. Хронический опыт проводят в тех же условиях, какие рекомендуются для *острого*. Объём исследуемой воды (раствора вещества) V=500 мл, смена растворов 2-3 раза в неделю. Изменение биологических показателей дафний в сосудах с токсикантами сравнивают контрольными сосудами.

Оценку результатов проводят по следующим показателям: плодовитости (фактической и потенциальной в перерасчёте на одну дафнию за 30 суток опыта в % по отношению к контролю). Для надёжности строят графики выживаемости, размеров рачков (по оси абсцисс откладывают время

поколения, а на оси ординат - величину показателя в контрольных и опытных вариантах.

При обработке результатов хронического эксперимента сравнивают показатели подопытных и контрольных дафний. На основании биотестирования с использованием дафний делают выводы о степени токсичности тестируемых проб воды, учитывая время проявления токсического эффекта, и рассчитывают разбавление, при котором хроническое токсическое воздействие тестируемых проб не проявляется.

Контрольные вопросы

1. Понятие о биоиндикации, определение.
2. Различные уровни биоиндикации.
3. Основные требования биоиндикации.
4. Методика проведения биотестирования. Этапы.
5. Индексы видового разнообразия.
6. Биотестирование на инфузориях.
7. Метод биотестирования с использованием дафний.

СОДЕРЖАТЕЛЬНЫЙ МОДУЛЬ 1.3 МИКРОФЛОРА БИОСФЕРЫ

Лекция 12. Распространение микроорганизмов в природе. Влияние факторов внешней среды

Физические факторы

Химические факторы

Биологические факторы

1. Физические факторы. Влияние факторов внешней среды. Микроорганизмы появляются всюду, где есть условия, способствующие их развитию. Существование микроорганизмов определяется внешними условиями, которые называются **экологическими факторами**. Различают физические, химические и биологические факторы внешней среды. К физическим факторам относятся следующие.

1) **Влажность.** Недостаток влаги отрицательно сказывается на жизнедеятельности микроорганизмов, так как жизненные процессы протекают в водных растворах. В процессе эволюции определились группы микроорганизмов более или менее устойчивые к высушиванию. Наименее устойчивы к высушиванию молодые клетки, споры могут сохранять жизнестойкость длительное время при недостатке влаги.

Скорость протекания биохимических процессов в почве резко снижается при снижении влажности.

Процессы аммонизации и нитрификации наиболее интенсивно протекают в почве при влажности 60%.

2) **Температура.** Микроорганизмы не обладают способностью к терморегуляции, поэтому температура клетки соответствует температуре внешней среды. Нормальное развитие микроорганизмов возможно лишь в определенном интервале температур.

По отношению к температуре микроорганизмы делятся на три группы:

а) **психрофильные** (холододлюбивые), хорошо развивающиеся при температуре, близкой к нулю (минимум от -5°C до $+5^{\circ}\text{C}$, оптимум $15-18^{\circ}\text{C}$, максимум $19-22^{\circ}\text{C}$), - синезеленые водоросли, актиномицеты;

б) **мезофильные**, развивающиеся при средних температурах (от 10 до 45°C , оптимум $25-35^{\circ}\text{C}$) – это микроорганизмы воды, почвы, а также обитающие в теплокровных животных;

в) **термофильные бактерии** – развивающиеся при повышенной температуре (минимум около 45°C , оптимум $55-70^{\circ}\text{C}$, максимум 80°C).

В природных условиях отдельные виды микроорганизмов могут встречаться при температуре $-7,5^{\circ}\text{C}$ в соляных озерах и $+99^{\circ}\text{C}$ в термальных источниках.

Скорость биохимических процессов находится в прямой зависимости от температуры. При увеличении температуры на 10°C скорость биохимических процессов увеличивается в 2-3 раза. Но в отличие от химических процессов биологические требуют очень медленного изменения температуры для того, чтобы живые организмы могли адаптироваться к этим изменениям.

Резкие изменения температуры могут вызвать гибель полезных микроорганизмов.

При очень низких температурах многие микроорганизмы переходят в стадию **анабиоза** (скрытой жизненности), т.е. потенциально возможного возврата к активной жизни.

Микробы выдерживают температуру -190°C , но перемежающееся замораживание и оттаивание действуют на них губительно, что объясняется превращением жидкой фазы в лед и уходом воды из клетки, что приводит к обезвоживанию организма.

Значительно хуже микроорганизмы переносят повышение температуры. Отмирание многих вегетативных форм бактерий при повышении температуры до $+60^{\circ}\text{C}$ происходит в течение 30 минут, при $+70^{\circ}\text{C}$ – через 10-15 минут, а при 100°C они гибнут в течение нескольких секунд. Споры обладают большей устойчивостью: выдерживают кипячение в течение часа, но погибают при температуре 120°C и давлении 1,5 атм. в течение 20-40 минут.

Гибель микроорганизмов при высокой температуре – результат тепловой активности РНК и повреждения цитоплазматической мембраны.

Воздействие высоких температур на жизнедеятельность бактерий используется для борьбы с ними, например, пастеризация и стерилизация.

Пастеризация – это нагревание в течение 30 минут при температуре 70°C .

Стерилизация – нагревание при 120°C в течение 30 минут.

3) **Действие излучений.** Влияние излучений на микроорганизмы зависит от длины волны.

Важное экологическое значение имеет свет для фотосинтезирующих микроорганизмов, которые не могут развиваться при его отсутствии (водоросли, пурпурные и зеленые бактерии).

Ультрафиолетовое излучение с длиной волны от 200 до 300 нм обладает наиболее сильным бактерицидным действием. На прямом солнечном свете отмирание микробов происходит в тонком слое воды через 20-30 минут.

Ионизирующее излучение в зависимости от его интенсивности оказывает различное действие: малые дозы облучения способствуют некоторой стимуляции жизнедеятельности микроорганизмов. В присутствии кислорода эффект облучения усиливается, что приводит к гибели большого числа микроорганизмов. Это можно объяснить образованием свободных радикалов, обладающих высокой реакционной способностью. Инициированные ими реакции ведут к нарушению биохимических процессов обмена веществ.

4) **Действие электрического тока.** При пропускании слабого постоянного тока происходит электрофоретическое перемещение бактерий к определенному полюсу вследствие наличия у бактериальных клеток равномерно распределенного по поверхности заряда (преимущественно отрицательного в нейтральных средах). При изменении pH величина заряда изменяется, а в кислых средах после перехода через изоэлектрическую точку бактериальные клетки приобретают положительный заряд и наблюдается коагуляция бактериальных клеток.

5) **Давление.** Микроорганизмы способны выдерживать давление до $3 \cdot 10^2$ МПа и более. Вирусы и бактериофаги отмирают при давлении порядка $6,5 \cdot 10^2$ МПа, неспорообразующие бактерии – при давлении $(4-5) \cdot 10^2$ МПа. Споры выдерживают давление до $2 \cdot 10^2$ МПа.

2. К химическим факторам относятся следующие:

1) **Концентрация растворенных веществ.** Одно и то же вещество может по-разному влиять на жизнедеятельность микроорганизмов. В малых концентрациях оно может быть стимулятором развития микроорганизмов, а при повышении концентрации задерживать их рост и даже вызывать отмирание. Например, 2%-ный раствор NaCl активизирует жизнедеятельность микроорганизмов, а повышение его концентрации до 5-10% вызывает их отмирание. В то же время существуют бактерии, которые приспособлены к жизни в водах с концентрацией NaCl до 25%.

Благодаря тому, что клетки микроорганизмов имеют механизм регуляции солевого обмена, химический состав самих клеток остается постоянным в разных средах.

2) **Влияние pH.** pH среды определяет не только условия существования, но и направленность биохимических процессов.

Для каждого вида существуют оптимальные величины pH: для большинства бактерий оптимум около 7, но некоторые микробы способны переносить отклонения от оптимума: например, оптимум pH для кишечной палочки 4,4-7,8; для нитритных бактерий – 4,8-8,8; нитратных бактерий – 6,5-9,3; серных бактерий – 1,0-4,0.

Микроорганизмы обладают способностью к некоторому регулированию рН. Если концентрация ионов H^+ ниже оптимальной, то они выделяют вещества, обладающие щелочными свойствами, и наоборот.

Влияние рН на микроорганизмы обусловлено взаимодействием ионов водорода с ферментами, находящимися в цитоплазматической мембране и клеточной стенке, в результате чего нарушается устойчивость коллоидного состояния белков цитоплазмы.

3) **Окислительно-восстановительный потенциал.** На развитие микроорганизмов существенно влияет направление окислительно-восстановительных процессов, протекающих в растворе. Одни из них проявляют наибольшую активность в среде, характеризующейся процессом окисления (аэробы), другие – при преобладании процессов восстановления (анаэробы).

Окислительно-восстановительный потенциал E_h неочищенных сточных вод обычно находится в пределах от 0 до – 400 мВ. Чистые воды пресных водоемов, содержащие достаточное количество растворенного кислорода, имеют $E_h=300-350$ мВ. При положительных значениях E_h развиваются аэробные микроорганизмы. Восстановительные условия сточных вод способствуют развитию анаэробных микроорганизмов.

По наличию определенных групп микроорганизмов в воде можно сделать вывод о характере протекающих процессов. И, наоборот, зная окислительно-восстановительные условия, можно предвидеть присутствие в воде определенных групп микроорганизмов.

4) **Влияние ядовитых химических соединений.** Микроорганизмы очень чувствительны к неорганическим и органическим химическим соединениям.

Соли тяжелых металлов (ртуть, медь, свинец, серебро и др.) обладают сильным бактерицидным действием. Для отмирания микроорганизмов достаточно содержание десятых долей миллиграмма их в 1 л воды.

Бактерицидное действие хлора, хлорной извести, озона, перманганата калия и других окислителей основано на протекании процессов окисления соединений, входящих в состав цитоплазмы клетки. Сильным токсичным действием обладают также йод, мышьяковистые и цианистые соединения.

Бактерицидным действием обладают такие органические соединения, как фенолы, низшие спирты, эфиры, формальдегид. Характер их действия заключается в адсорбции на коллоидных частицах цитоплазмы, в результате чего нарушается нормальное протекание обменных процессов.

Токсичность химических веществ зависит от физико-химических свойств среды. Очень малые дозы солей Mn, Co, Cu и др. (микроэлементы) могут стимулировать жизнедеятельность микроорганизмов. Повышенная концентрация этих соединений вызывает торможение и отмирание микроорганизмов.

Пестициды, ПАВ и другие органические соединения, содержащиеся в сточных водах предприятий органического синтеза, также токсичны для микроорганизмов.

3. Биологические факторы. Различные группы организмов, объединенные единой средой обитания, взаимодействуют между собой определенным образом, образуя естественные сообщества организмов – **биоценозы**.

В биохимическом отношении водоем представляет собой единую экологическую систему со сложными типами взаимоотношений между различными группами водных организмов (гидробионтов). Взаимодействие между различными группами микроорганизмов и другими живыми организмами можно охарактеризовать следующими типами:

- 1) симбиоз;
- 2) метабиоз;
- 3) антагонизм;
- 4) паразитизм.

Симбиотические отношения проявляются, если одни микроорганизмы благоприятствуют жизнедеятельности других. Так, некоторые водоросли находятся в симбиотических отношениях с простейшими.

Метабиотические взаимоотношения заключаются в том, что вещества, выделяющиеся микроорганизмами в процессе обмена веществ, используются другими микроорганизмами. Примером таких взаимоотношений является деятельность бактерий-минерализаторов. Органические кислоты, выделяющиеся при разложении целлюлозы целлюлозоразлагающими бактериями, служат питательными веществами для азотобактерий. В свою очередь, удаление продуктов обмена веществ из окружающей среды благоприятствует жизнедеятельности целлюлозоразлагающих бактерий. В подобных отношениях находятся между собой бактерии-аммонификаторы, нитрозо- и нитробактерии.

Антагонистические взаимоотношения между микроорганизмами могут проявляться в тех случаях, когда продукты обмена веществ одних микроорганизмов являются токсичными для других. Эти метаболиты называются **антибиотиками**. Примером антибиотического действия служит подавление жизнедеятельности гнилостных бактерий веществами, выделяемыми плесневыми грибами.

Особой формой антагонистических отношений является использование одних микроорганизмов другими в качестве пищи (**хищничество**). Так, некоторые виды инфузорий питаются бактериями и другими простейшими, например, жгутиковыми.

Паразитизм заключается в том, что микроорганизмы, способные к питанию живым органическим веществом, проникают в организм хозяина и развиваются в нем, вызывая нарушение обмена веществ. К паразитическим формам относятся бактериофаги, болезнетворные бактерии, вирусы, некоторые простейшие.

В последние годы для интенсификации процессов самоочищения водоемов применяют биологический способ, основанный на использовании

микроорганизмов рода *Bdellovibrio*, вызывающих отмирание многих видов бактерий.

Контрольные вопросы.

1. Влияние физических факторов на микроорганизмы.
2. Влияние химических факторов на жизнедеятельность микроорганизмов.
3. Адаптация микроорганизмов. Взаимодействие между различными группами микроорганизмов.
4. Дайте понятие симбиозу, антагонизму, паразитизму микроорганизмов..
5. Сравните биологические и химические факторы.

Лекция 13. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе

Участие микроорганизмов в биологическом круговороте углерода в природе

Участие микроорганизмов в круговороте азота в природе

Участие микроорганизмов в биологическом круговороте фосфора в природе

1. Участие микроорганизмов в биологическом круговороте углерода в природе

Углеродные ресурсы на Земле представлены следующими формами: углерод в органических соединениях (ископаемые остатки, почвенный гумус, живая и отмершая биомасса) и неорганических веществах (карбонаты, углекислый газ), которые присутствуют во всех частях (лито-, гидро- и атмосфера) биосферы.

К особенностям цикла углерода можно отнести ведущую сопряженную роль живых организмов в его реакциях, в первую очередь фотосинтезирующих организмов (растений и микроорганизмов), образующих органическое вещество (продукция), и микроорганизмов, разлагающих его и возвращающих CO_2 в круговорот углерода (деструкция).

Процессы минерализации органического вещества происходят как в аэробных, так и в анаэробных (метаногенез) условиях. Круговорот углерода начинается с фиксации CO_2 зелеными растениями и автотрофными микроорганизмами (рис. 13.1).

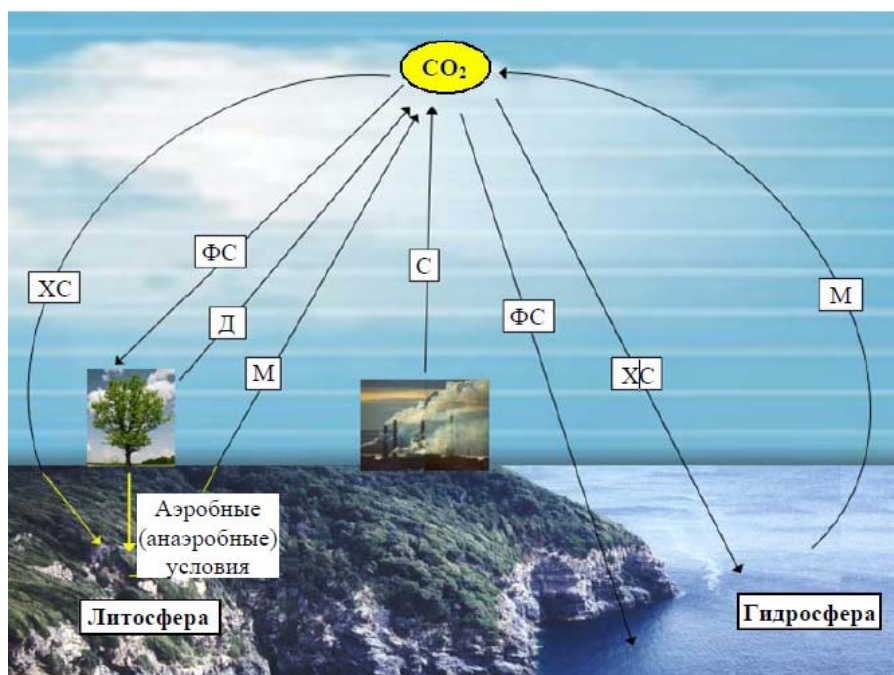


Рис. 13.1– Схема круговорота углерода

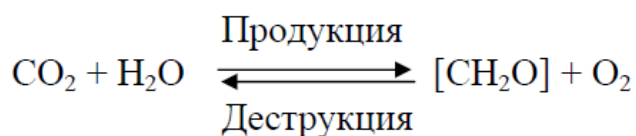
ФС – фотосинтез; ХС – хемосинтез; Д – дыхание; М – минерализация; С – сжигание.

Образовавшиеся в процессе фото- и хемосинтеза углеводы или другие углеродсодержащие органические соединения частично используются этими же организмами для получения энергии, при этом CO_2 (продукт реакций окисления) выделяется в среду. Часть фиксированного растениями углерода потребляется человеком и животными, которые выделяют его в форме CO_2 в процессе дыхания. Углерод, образующийся в результате разложения отмерших растений и животных, окисляется до CO_2 и тоже возвращается в атмосферу.

Ведущая роль в возвращении углерода в атмосферу принадлежит микроорганизмам. В процессе дыхания и брожения они разлагают самые разнообразные органические вещества. Более доступными являются углеродсодержащие соединения, растворимые в воде (углеводы, спирты и др.). Но в естественных условиях – в почве и воде – в гораздо большем количестве встречаются труднорастворимые соединения углерода, такие как крахмал, пектиновые вещества, целлюлоза, лигнин. В них сосредоточена основная масса углерода. Разложение их начинается с гидролиза, в результате чего образуются более простые соединения типа углеводов.

Дальнейшее превращение данных соединений осуществляется в реакциях дыхания или брожения.

В аэробных условиях очевидна связь между процессами образования органического углерода, выделения O_2 и потребления CO_2 , что следует из уравнения:



Необходимо обратить внимание и на то, что примерно 1 % минерализованного углерода поступает в биосферу в виде метана биогенного происхождения. Это количество постоянно возрастает, что сказывается и на увеличении в атмосфере содержания так называемых парниковых газов.

Прирост метана ежегодно в 3 раза превышает прирост в атмосфере CO_2 , а его парниковый эффект в 23 раза выше такого же количества CO_2 . Приведенные данные об образовании метана следует рассматривать как минимальные, так как основная часть (до 50 %) его окисляется на границе аэробно-анаэробной зоны метанотрофными микроорганизмами.

2. Участие микроорганизмов в круговороте азота в природе

Азот является вторым наиболее важным биогенным элементом. В результате биохимической деятельности микроорганизмов могут образовываться его соединения с валентностью от -3 до $+5$ (в зависимости от окислительно-восстановительных условий). Круговорот азота состоит из четырех этапов, (рис. 13.2).

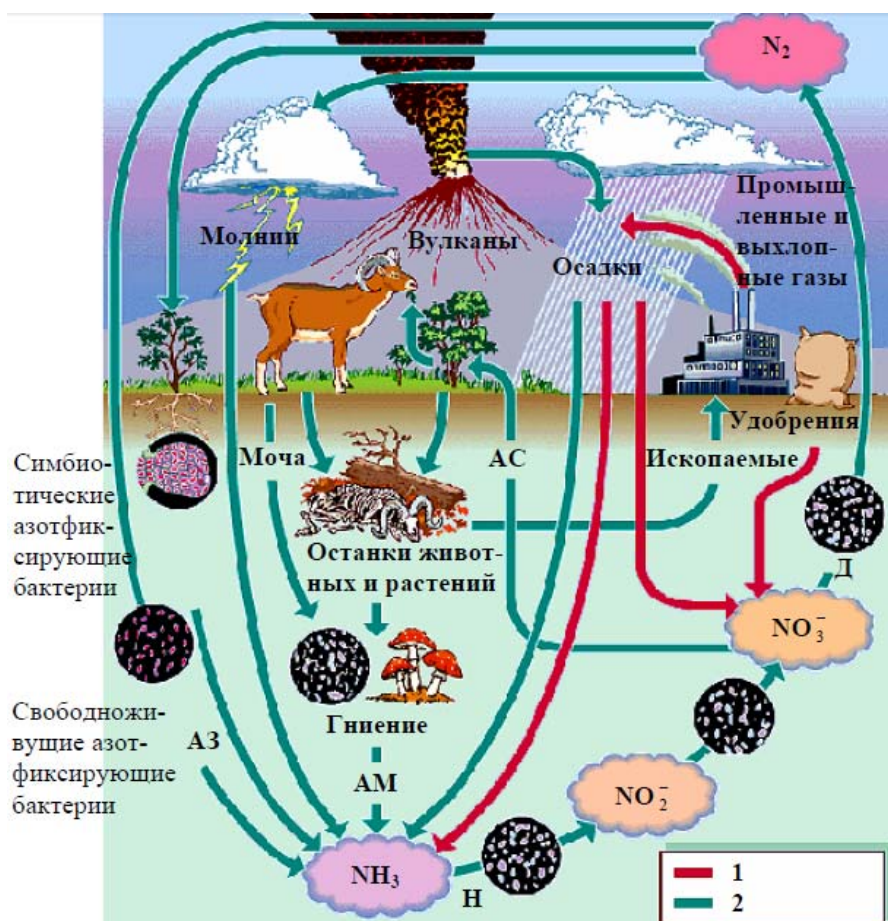


Рис. 13.2 – Схема круговорота азота

1 – деятельность человека; 2 – природная активность; АМ – аммонификация; АС – ассимиляция растениями и микроорганизмами; АЗ – азотфиксация; Д – денитрификация; Н – нитрификация

Первый этап – **фиксация молекулярного азота**. Он осуществляется аэробными и анаэробными азотфиксирующими микроорганизмами, которые могут быть свободноживущими и симбиотическими. Конечным продуктом азотфиксации является ион аммония NH_4^+ , который ассимилируют микроорганизмы и растения и включают в азотсодержащие органические вещества.

Второй этап круговорота азота, получивший название **аммонификации**, приводит к высвобождению аммиака, но уже в результате процессов минерализации органического вещества.

Аммонификации подвергаются вещества самой разнообразной структуры – белковые соединения, аминсахара, нуклеиновые кислоты, алкалоиды, мочевины и другие, причем освобождающийся аммиак расходуется по-разному. Часть его адсорбируется в обменных реакциях почвы, часть используется гетеротрофными микроорганизмами и превращается в белки их клеток; некоторое количество аммиака окисляется хемолитотрофами до нитритов и нитратов. Он также может остаться в свободном состоянии и выделяться в атмосферу.

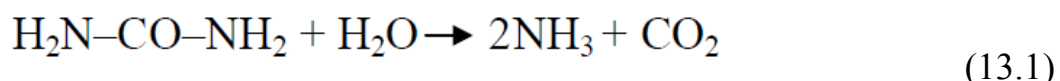
В аммонификации принимают участие многие микроорганизмы, включая неспорообразующие и спорообразующие бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы. В зависимости от стадии минерализации органического вещества доминируют те или другие представители. Активными возбудителями аммонификации являются бактерии рода *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Proteus* и др.

Расщепление белков начинается с гидролиза, осуществляемого внеклеточными гидролитическими ферментами, выделяемыми аммонификаторами. В результате образуются более простые продукты: белок → пептоны → пептиды → аминокислоты.

Аминокислоты ассимилируются бактериями как источники питания, и под действием внутриклеточных ферментов дезаминаз от них отщепляется аммиак – конечный продукт аммонификации. Чаще всего наблюдается гидролитическое и окислительное дезаминирование, реже – дезаминирование, приводящее к образованию ненасыщенных соединений; для анаэробных условий характерно восстановительное дезаминирование.

Наряду с дезаминированием может происходить и декарбоксилирование аминокислот. Обычно в кислой среде наблюдается декарбоксилирование, в щелочной – дезаминирование. Обе ферментные системы – дезаминазы и декарбоксилазы – действуют как механизмы нейтрализации среды, в результате чего pH поддерживается на уровне, обеспечивающем нормальную жизнедеятельность клетки. При декарбоксилировании аминокислот образуются первичные амины, такие как кадаверин, путресцин (трупные яды), и выделяется углекислый газ.

Дезаминированию подвергаются вещества и небелковой природы, например мочевины. Большое число бактерий способно использовать мочевины в качестве источника азота. Мочевина расщепляется гидролитическим ферментом уреазой:



У большинства бактерий синтез уреазы подавляется ионами аммония. Благодаря этому количество образующегося и выделяющегося аммиака не превышает того, что требуется для синтеза белков. Лишь у немногих бактерий, известных своей способностью разлагать мочевины (*Bacillus pasteurii*, *Sporosarcina urea*, *Proteus vulgaris* и др.), уреазы представляет собой конститутивный фермент; для ее образования не требуется индукции мочевиной и аммиак не подавляет ее синтез. Поэтому эти бактерии могут расщеплять всю имеющуюся мочевины (например, в конюшнях) до аммиака. В результате pH среды сдвигается до значений 9–10, к которым эти бактерии приспособлены.

На третьем этапе круговорота азота происходит **нитрификация**: образовавшийся при аммонификации аммиак окисляется до нитритов и нитратов.

Типичные нитрификаторы относятся к хемолитоавтотрофам. Процесс нитрификации является двухфазным, причем каждая фаза осуществляется различными видами бактерий.

Кроме типичных нитрификаторов, многие гетеротрофные бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Xanthomonas* способны окислять аммиак и другие восстановленные соединения азота до нитритов и нитратов. Этот тип нитрификации получил название гетеротрофный. В отличие от нитрификации, осуществляемой хемолитотрофными бактериями, гетеротрофная нитрификация не является источником энергии для бактерий.

Гетеротрофная нитрификация широко распространена в природе, особенно там, где аммиак образуется в условиях высокого содержания органического вещества, например в компостах, сточных водах.

Нитраты, образующиеся в процессе нитрификации, потребляются определенными растениями и микроорганизмами, имеющими ассимиляционную нитратредуктазную активность. Если нитраты служат не только источниками азота, но и акцепторами электронов в бескислородных условиях, говорят о **денитрификации**. В результате ее образуется либо NH_4^+ , либо N_2 , который выделяется в атмосферу и возвращается в цикл. Этот процесс протекает с высвобождением NO и NO_2 в качестве побочных продуктов, которые также поступают в атмосферу, где действуют как газы, создающие парниковый эффект.

3. Участие микроорганизмов в биологическом круговороте фосфора в природе. Фосфор, относящийся к группе биогенов, представляет собой химический элемент, без которого невозможны основные биосинтетические реакции в клетке. Более того, считается, что рост, накопление биомассы и продуктивность живых организмов определяются соотношением N:P, которое может варьировать от 10 – 15 до 2. Однако почти во всех экологических системах фосфора меньше, чем азота, и именно он лимитирует массу живого вещества. Кроме того, содержание фосфора в реакциях анаболизма тесно сопряжено с содержанием органического углерода и выражается как 100:1.

В живых организмах фосфор присутствует только в пентавалентном состоянии в виде свободных фосфатных ионов (PO_4^{3-}) или органических фосфатных компонентов клетки. Живые клетки не способны поглощать большинство органических соединений, они предпочтительно используют соединения неорганического ортофосфата, из которых внутри них синтезируются органические фосфорсодержащие соединения. После отмирания организмов происходит минерализация этих соединений с помощью микроорганизмов и фосфатный ион снова освобождается.

Однако, несмотря на быстрое функционирование круговорота фосфора и относительное обилие фосфатов в почвах и горных породах, вследствие малой растворимости фосфорных минералов (апатитов, варисцитов, фосфатов железа и кальция) содержание неорганического фосфата во многих природных местообитаниях ограничено. Доступность фосфатов лимитируется также их способностью адсорбироваться на органических и неорганических полимерах. Все это приводит к тому, что фосфат служит фактором, ограничивающим рост многих организмов.

Микроорганизмы осуществляют следующие преобразования соединений фосфора: перевод в растворимую форму фосфатных минералов, включение неорганического фосфата в органические соединения клеток и минерализацию органических соединений фосфора.

Растворение минеральных фосфатов осуществляется с помощью кислот (органических или неорганических), которые являются продуктами метаболизма микроорганизмов. Органические кислоты (щавелевая, гликолевая, уксусная, молочная, лимонная и др.), синтезируемые многими гетеротрофными бактериями и грибами, лучше растворяют апатиты, так как кроме снижения pH они образуют хелаты с кальцием. Гуминовые кислоты, освобождаемые из разлагающихся органических веществ, могут образовывать хелаты с кальцием, железом или алюминием, освобождая ортофосфат. Продукты метаболизма хемолитотрофных бактерий – азотная и серная кислота приводят к высвобождению ортофосфата из фосфоритов. Кроме того, H_2S , выделяемый в процессе жизнедеятельности многими микроорганизмами, приводит к растворению фосфатов железа.

Включение (иммобилизация) растворимых фосфатов в растущие клетки микроорганизмов наблюдаются во всех экосистемах, но количество вовлекаемого фосфора невелико. В водной экосистеме основную массу фосфора накапливает фитопланктон. Известно лишь, что бактериальные клетки содержат значительно большее количество фосфора (1,5 – 25 % сухого вещества), чем грибы (0,5–1,0 %) или растения (0,005–0,5 %). В последние годы отмечается роль в иммобилизации фосфора и грибов-эндомикоризообразователей. За счет наличия кислых фосфатаз они улучшают снабжение фосфором растений при внедрении гиф и образовании везикулярно-арбускулярной микоризы.

Минерализацию фосфорсодержащих органических веществ осуществляют почти все гетеротрофные микроорганизмы, синтезирующие различные ферменты, такие как нуклеазы, фосфолипазы, фитазы и др.

Круговорот фосфора в основном является однонаправленным, так как растворимые фосфаты постоянно переносятся из почвенной среды в моря и океаны и вследствие выщелачивания осаждаются в них. Единственный источник поступления (возвращения) фосфатов на сушу – процессы выветривания. Кроме того, отличительной особенностью круговорота фосфора от других биогенных элементов является отсутствие его в виде газообразных соединений.

При техногенных загрязнениях водоемов сточными водами богатыми фосфатами, содержащимися в детергентах, инсектицидах и т. п., наблюдается чрезмерное размножение в них водорослей и резкое увеличение их продуктивности. Это приводит к серьезным экологическим проблемам современности – переходу водоемов от олиготрофного состояния к **эвтрофному**. Повышение уровня первичной продукции при эвтрофикации связано с накоплением в водоемах органического вещества при разложении водорослей, которое не успевает минерализоваться. Кроме того, в процессе разложения органического вещества водорослей происходит интенсивное поглощение кислорода гетеротрофами, что может привести к истощению в водоеме запаса растворенного кислорода и последующей гибели его животного мира (в первую очередь рыбы). Такая постепенная биологическая деградация пресноводных водоемов в настоящее время приобрела широкие масштабы. Решение этой проблемы возможно только при прекращении сбросов в водоемы сточных вод и их очистке.

Контрольные вопросы.

1. За счет чего происходит разрушение органических веществ?
2. Механизм разрушения органических веществ.
3. Участие микроорганизмов в биологическом круговороте углерода в природе.
4. Четыре этапа круговорота азота в природе.
5. Роль микроорганизмов в биологическом круговороте фосфора в природе.

Лекция 14. Микрофлора биосферы

Микроорганизмы почвы

Микроорганизмы воздуха

1. Микроорганизмы почвы Почва - это самый верхний рыхлый слой земной коры, покрытый растительностью и обладающий плодородием.

Образование почвы - сложный длительный исторический процесс. Почва образовалась в результате изменения материнских горных пород под воздействием физических и биологических факторов. Она содержит как минеральные, так и органические вещества. В результате физических и химических процессов выветривания твердых пород образуются осколки камней различной величины; далее минеральные остатки могут разрыхляться водой, льдом, ветром и участвовать в формировании почвы.

В почвообразовании участвуют три группы организмов: зеленые растения, микроорганизмы и животные, образующие на суше сложные биоценозы. При совместном воздействии организмов в процессе их жизнедеятельности осуществляются важнейшие звенья почвообразования: синтез и разрушение органического вещества, избирательная концентрация биологически важных элементов, разрушение и новообразование минералов, миграция и аккумуляция веществ и другие явления, составляющие сущность почвообразовательного процесса и определяющие формирование главного свойства почвы - плодородия. Вместе с тем функции каждой из этих групп как почвообразователей различны.

Почва обладает некоторыми свойствами, которых лишены воздушная и водная среды. Частицы почвы образуют «мелкоячеистый фильтр», который весьма эффективно задерживает твердые взвеси из вод, просачивающихся в почву. В то же время поры почвы служат копилкой питательных веществ. Всю систему «цементируют» частицы глины и гумуса, которые адсорбируют целый ряд веществ. Таким образом, почвы в течение ряда лет могут удерживать вредные вещества, не давая последним возможности перейти в грунтовые воды. По исчерпанию адсорбционной емкости наступает прорыв - внешне неожиданное загрязнение грунтовых вод, даже без поступления вредных веществ. Следует отметить, что почвы обладают значительной способностью к регенерации. Многие обитатели почвы служат источником ферментов, в присутствии которых вредные вещества расщепляются быстрее, чем в воде или на воздухе.

Микрофлора почвы характеризуется большим разнообразием микроорганизмов, которые принимают участие в процессах почвообразования и самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и других элементов.

В почве развиваются бактерии, грибы, водоросли и простейшие, входящие в состав лесных и травянистых биоценозов. Общее количество микроорганизмов в почве исчисляется миллионами и миллиардами в 1 г. Их количество минимально в почвах северных широт (подзолистые) и максимально в черноземах и сероземах, формирующихся под травянистой растительностью. На поверхности почвы микроорганизмов достаточно мало, так как на них губительно действуют ультрафиолетовые лучи, высушивание и т.д. Наибольшее количество микроорганизмов содержится в верхних горизонтах почвы, внутрь от поверхности оно уменьшается, и примерно на глубине 3 - 4 м они практически отсутствуют. Характерна неравномерность распределения микроорганизмов в массе почвы: максимальное количество их сосредоточено около живых корешков и на поверхности мертвых растительных остатков. Эта пленка, обогащенная микроорганизмами, называется ризосферой. Большинство микроорганизмов почвы способны развиваться при нейтральном pH, высокой относительной влажности, значениях температуры 25 - 45 °C.

Кислые почвы менее благоприятны для жизнедеятельности микроорганизмов.

Видовой состав микрофлоры находится в зависимости от типа почвы. Наиболее широко распространены в почве микроорганизмы-гетеротрофы, осуществляющие разложение органических веществ. Много в почве кокковых форм, спорообразующих палочек. В ней всегда имеются актиномицеты, дрожжи. Много в почве бактерий-нитрификаторов. Из простейших наиболее распространены саркодовые (амебы), жгутиковые и некоторые виды инфузорий.

В почве могут довольно долго сохраняться некоторые болезнетворные формы бактерий.

Микроорганизмы почвы участвуют в создании гумуса (перегноя), состав которого определяется деятельностью различных групп микроорганизмов.

Грибы. Разрастаясь на поверхности или в глубине субстрата, грибы соприкасаются с ним клеточной оболочкой, через которую они выделяют во внешнюю среду ферменты и поглощают питательные вещества абсорбтивным путем. Почвенные грибы представляют самую крупную экологическую группу, участвующую в минерализации органических остатков растений и животных и в образовании почвенного гумуса.

В наземных биогеоценозах основная масса грибов сосредоточена в почве, где их мицелий достигает общей длины 700 - 1000 м в 1 г почвы. Среди почвенных грибов выделяют пять экологических групп на основании, главным образом, их взаимоотношений с высшими растениями:

- 1) паразиты, находящиеся в почве большей частью в виде спор или покоящихся форм;
- 2) факультативные паразиты подземных и наземных частей растений;
- 3) сапрофиты;
- 4) микоризообразователи;
- 5) хищные грибы.

Выделяют также большую группу грибов-симбионтов, сожительствующих с водорослями и цианобактериями в составе лишайников.

Среди грибов-сапрофитов наиболее распространены плесневые из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*. В аэробных условиях они синтезируют и выделяют во внешнюю среду разнообразные гидролитические ферменты, расщепляющие за сутки клетчатку, лигнин, жиры, белки и другие органические соединения. Грибы разлагают в 2 - 7 раз больше органического вещества, чем потребляют. Они участвуют также в минерализации гумуса почвы.

Водоросли. Почвенными водорослями называют экологическую группировку тех видов водорослей, жизнь которых постоянно связана с почвой. Это простые одноклеточные организмы, нити или колонии. Среди них различают наземные формы, которые при благоприятных условиях разрастаются на поверхности почвы в виде корочек или пленок; водно-наземные, живущие в водной среде постоянно влажных почв; собственно почвенные, обитающие в толще почвенного слоя.

Почвенные водоросли распространены повсеместно, главным образом в поверхностных слоях почвы, где условия для них наиболее благоприятны.

Влага - один из самых важных экологических факторов, определяющих распространение водорослей.

Функции водорослей в почвах определяются, прежде всего, их принадлежностью к фотоавтотрофной группе организмов - первичным продуцентам органического вещества. Продуктивность водорослей в наземных биогеоценозах несравнимо меньшая, чем продуктивность высших растений, однако их биомасса изменчива, она быстро накапливается при благоприятных условиях и легко минерализуется, а также служит пищей для беспозвоночных животных.

Потребность водорослей в питательных веществах различна. На свету водоросли благодаря наличию хлорофилла используют углерод (CO_2). Источником азота для них служат минеральные формы этого элемента. Нитраты они усваивают легче других соединений. Водоросли, живущие в темноте, нуждаются в источниках органического углерода и используют его из растительных остатков или из продуктов обмена веществ бактерий. В этих условиях лучший источник азота для них - аммонийный азот. Для водорослей благоприятно высокое содержание органических веществ, поэтому они в больших количествах встречаются в окультуренных и садовых почвах.

В болотных почвах и на рисовых полях водоросли улучшают аэрацию, усваивая растворенный CO_2 и выделяя в воду кислород.

Почвенные водоросли могут быть биоиндикаторами протекающих в почве процессов, газового и солевого режимов, загрязненности почв продуктами промышленной деятельности человека.

Простейшие обнаружены во всех почвах независимо от типа и географического местонахождения. Однако их число в почве зависит от ее типа, содержания в ней органического вещества, влажности, сезона года, растительности и других факторов, колеблется в значительных пределах и может достигать нескольких миллионов в 1 г абсолютно сухой почвы. В засушливые периоды, а также зимой количество их в почве резко уменьшается, при этом они переходят в инертное состояние, в форму цист. Биомасса в благоприятных условиях достигает 30-40 г/м².

У простейших складываются сложные отношения с другими почвенными микроорганизмами. Они поедают бактерии, клетки дрожжей и водорослей, проявляя при этом избирательность в выборе пищи. Есть среди простейших и сапрофаги. Основная роль простейших в почве - участие в разложении органического вещества и поедание клеток микроорганизмов. Так, почвенные амёбы, кроме других бактерий, активно поглощают клетки азотобактера. Уничтожая часть клеток, простейшие поддерживают численность азотобактера на определенном уровне; кроме того, биологически активные вещества простейших положительно влияют на фиксацию азота атмосферы почвенными микроорганизмами.

В почве обитают представители трех классов простейших: жгутиконосцы (*Flagellata*), саркодовые (*Sarcodina*) и инфузории (*Ciliata*). Среди жгутиконосцев есть виды, содержащие в клетках пигменты, в том числе хлорофилл, и способные к фотосинтезу. Это растительные жгутиконосцы, или

фитомастигины. Они занимают промежуточное положение между растениями и животными. Типичный представитель - *Euglena viridis* (эвглена зеленая).

Бактерии. В почвах присутствует большое количество бактерий.

Клубеньковые бактерии (*Rhizobium*) - подвижные палочки, не образующие спор. Они фиксируют азот и под влиянием этих бактерий ткань корня разрастается и образует клубеньки.

Энтеробактерии являются активным возбудителем гнилостного процесса, при котором происходит распад белков животного происхождения. Они способен также гидролизовать мочевины.

Миксобактерии и цитофаги - слизиобразующие скользящие бактерии. У них сложный цикл развития с образованием плодовых тел. Помимо почвы, миксобактерии растут на навозе травоядных животных, на коре деревьев. Они важные агенты разложения целлюлозы (*Polyangium*).

К олиготрофным почвенным бактериям относят и *Seliberia stellata*. При росте их на средах с гумматами железа происходит отложение гидрата окиси железа, поэтому их относят к железобактериям.

Актиномицеты разлагают клетчатку, лигнин, перегнойные вещества почвы. Участвуют в образовании гумуса. Актиномицеты лучше развиваются в почвах с нейтральной или слабощелочной реакцией, богатых органическим веществом и хорошо обрабатываемых.

Спорообразующие бактерии - почти все хемотротрофы, использующие органические субстраты в процессах аэробного или анаэробного дыхания либо брожения.

Аэробные свободноживущие или патогенные бактерии палочковидной формы (**бациллы**). В почве они участвуют во многих процессах, связанных с разложением разных органических субстратов, составляя группу гидролитиков. Вызывают аммонификацию белков (*B.subtilis*, *B.mycoides*), мочевины (*B.pasteurii*), мочевой кислоты (*B.fastidiosus*), разложение фосфорорганических соединений (*B.megaterium*).

Спорообразующие анаэробы в почвах представлены родами *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Anaerobacter*. Это довольно крупные палочки (от 3 до 30 мкм). Их споры устойчивы к нагреванию и кислороду. Среди них можно выделить несколько групп по физиологическим функциям:

Коринеподобные бактерии - грамположительные прокариоты. Это гетеротрофы, участвующие в процессах минерализации органических веществ в аэробных условиях. Их пропорция возрастает в почвах, бедных свежими органическими остатками, и в экстремальных условиях. Они составляют основную массу микробного населения почв тундры, высокогорных районов и пустынь.

Археи составляют отдел *Mendosicutes*. К ним принадлежат:

- метаногенные - это бактерии, участвующие в процессе анаэробного разложения органического субстрата, конечным продуктом которого является метан;

- сероокисляющие - аэробные археобактерии, которые участвуют в окислении соединений серы и закисного железа в термоацидофильных условиях. Они представлены одним родом *Sulfolobus*;

- серовосстанавливающие - анаэробные археобактерии, восстанавливающие элементарную серу до H_2S . Это экстремальные термофилы с оптимумом от 85 до 105 °C (*Thermoproteus*, *Thermococcus*, *Thermodiscus*);

- галобактерии - участвуют в циклах углерода и азота в условиях сильного засоления. Они аэробы или факультативные анаэробы (*Haloarcula*, *Halobacterium*).

2. Микроорганизмы воздуха. Воздух как среда обитания для микроорганизмов менее благоприятен, чем почва и вода, так как в нем не содержится или содержится очень мало питательных веществ, необходимых для размножения микроорганизмов. Кроме того, на них сильнее действуют такие неблагоприятные факторы, как высушивание и ультрафиолетовые лучи солнечного света. Тем не менее, попадая в воздух, многие микроорганизмы могут сохраняться в нем более или менее длительное время. Воздух особенно загрязнен вблизи земной поверхности, а по мере подъема вверх он становится все более чистым. На степень загрязнения воздуха микробами влияют и климатогеографические условия. Больше всего микробов в атмосфере содержится летом, меньше всего - зимой. Главным источником загрязнения воздуха является почва, в меньшей степени - вода.

В воздухе в естественных условиях обнаруживаются сотни видов сапрофитных микроорганизмов, представленных кокками (в том числе сарцинами), споровыми бактериями и грибами, отличающимися большой устойчивостью к высушиванию и другим неблагоприятным условиям внешней среды, например действию солнечных лучей. Нужно различать воздух открытых пространств (он относительно чище, так как сказывается действие солнечных лучей, высушивания и других факторов) и воздух закрытых помещений. В последних факторы самоочищения действуют слабее, поэтому и загрязненность может быть значительно больше. В воздухе закрытых помещений, особенно если они плохо проветриваются, накапливается микрофлора, выделяемая через дыхательные пути человека.

Патогенные микроорганизмы попадают в воздух из мокроты и слюны при кашле, разговоре и чихании. Даже здоровый человек при каждом акте чихания выделяет в воздух 10000 - 20000 микробных тел, а больной - иногда во много раз больше.

Количество микробов в воздухе варьирует в больших диапазонах – от нескольких бактерий до десятков тысяч их в 1 м^3 . В 1 г пыли может содержаться до 1 млн. бактерий. Общее количество микробов в операционной до операции не должно превышать 500 в 1 м^3 , а после операции - 1000 в 1 м^3 .

Для исследования микрофлоры воздуха используют различные методы: седиментацию (метод Коха), фильтрационный (воздух продувают через воду) и методы, основанные на принципе ударного действия воздушной струи с использованием специальных приборов. Последние методы наиболее надежны,

так как позволяют точно определить количественное загрязнение воздуха микроорганизмами и изучить их видовой состав.

Контрольные вопросы

1. Из каких групп микроорганизмов состоит микрофлора почвы?
2. Какие микроорганизмы участвуют в почвообразовании?
3. Механизм очистки почвы.
4. Какая роль принадлежит анаэробным микроорганизмам почвы?
5. Видовое разнообразие почвенных бактерий.
6. Какие микроорганизмы обитают в воздухе?
7. Какие методы используют для исследования микрофлоры воздуха?

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Химия и микробиология воды: Практикум. / Л.А Кульский, Т.М. Левченко, М.В. Петрова. – К.: Вища школа, 1987. – 172 с.
2. Никитин Г.А. Биохимические основы микробиологических производств. / Г.А. Никитин. – К.: Вища школа, 1994.- 268 с.
3. Орловский З.А. Очистка сточных вод в аэротенках. / З.А. Орловский – М., 1963. – 126 с.
4. Микробиология очистки воды./ М.Н Ротмистров., П.Н. Гвоздяк, С.С. Ставская – К.: Наукова думка, 1978. – 268 с.
5. Таубе П.Р. Химия и микробиология воды./ П. Р Таубе., А. Г. Баранова– М.: Высшая школа, 1983. – 280 с.
6. Фонкен Г. Микробиологическое окисление. – М.: Мир, 1991.
7. Яковлев С.В. Биохимические процессы в очистке сточных вод./ С.В Яковлев., Т.А. Карюхина – М.: Стройиздат, 1980. – 200 с.
8. Мікробіологія: підручник: (для студентів вищих навчальних закладів) / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, І. С. Білінська. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. – 360 с.
9. Карпов О. В. Сучасні напрями в мікробіології. Конспект лекцій. / О. В. Карпов. – К.: НУХТ, 2004. – 84 с.
10. Клещев Н.С. Общая промышленная биотехнология: Технология бродильных производств: Учеб. пособие / Н. С. Клещев, М. П. Бенько. – Х.: НТУ «ХПИ», 2007. – 200 с.
11. Микробиология: Учебник для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – М.: Издательский центр «Академия», 2006.–352 с.

Навчальне видання

Чуб Ірина Миколаївна
Булгакова Олеся Вікторівна

Конспект лекцій
з дисципліни

«Мікробіологія»

(для студентів 2 та 4 курсів денної і заочної форм навчання за напрямками
6.060103 «Гідротехніка (Водні ресурси)» та 6.060101 «Будівництво
(спеціальність «Водопостачання та водовідведення»))

(Рос. мовою)

Відповідальний за випуск К. Б. Сорокіна

За авторською редакцією

Комп'ютерне верстання *І. М. Чуб*

План 2013, поз. 22Л

Підп. до друку 05.05.14
Друк на ризографі.
Зам.№

Формат 60 x 84 1/16
Ум. друк. арк. 6
Тираж 50 пр.

Видавець і виготовлювач:

Харківський національний університет міського господарства
імені О. М. Бекетова,
вул. Революції, 12, Харків, 61002

Електронна адреси: rectorat@kname.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:

ДК № 4705 від 28.03.2014